

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**HONGOS ASOCIADOS A INFECCIONES EN LA ZONA
DE INJERTACIÓN DE PLANTAS DE VID Y EFICACIA
DE *Trichoderma harzianum* EN SU CONTROL**

PRESENTADA POR:

Br. DARCY JAKELINE MARCHAN ABAD

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

PIURA, PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**HONGOS ASOCIADOS A INFECCIONES EN LA ZONA DE
INJERTACIÓN DE PLANTAS DE VID Y EFICACIA DE**

Trichoderma harzianum **EN SU CONTROL**

PRESENTADA POR:

Br. DARCY JAKELINE MARCHAN ABAD
TESISTA

Ing. JAVIER JAVIER ALVA M.Sc.
ASESOR

PIURA, PERÚ

2018

DECLARACIÓ JURADA DE AUTENTICIDAD DE LA TESIS

Yo **DARCY JAKELINE MARCHÁN ABAD** identificada com DNI N° 70016506, Bachiller de la Escuela Profesional de Agronomía, de la Facultad de Agronomía, y domiciliada en Conjunto Habitacional Micaela Bastidas Manzana A Lote34 Distrito Veintiséis de Octubre. Provincia de Piura, Departamento de Piura.

Celular 977168682

E-mail: dajama3012@hotmail.com

DECLARO BAJO JURAMENTO: que la tesis que presento es auténtica e inédita, no siendo copia parcial ni total de uma tesis desarrollada, y/o realizada en el Perú o en el extranjero, en caso contrario, de resultar falsa la información que proporciono, me sujeto a los alcances de lo establecido em el Art. N° 411, del código Penal concordante con el Art. N° 32 de la ley N° 27444, y ley del procedimiento Administrativo General, y las Normas Legales de Protección a los Derechos de Autor.

En fe de lo cual firmo lo presente

Piura, Octubre del 2018



DNI N° 70016506


UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



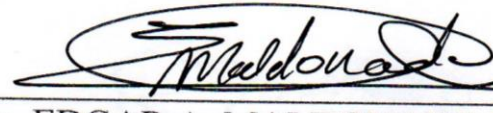
TESIS

**HONGOS ASOCIADOS A INFECCIONES EN LA ZONA DE
INJERTACIÓN DE PLANTAS DE VID Y EFICACIA DE
Trichoderma harzianum EN SU CONTROL**

APROBADA POR:


Dr. CÉSAR A. MURGUÍA REYES
PRESIDENTE


Ing. ANGELINO CORDOVA PEÑA M.Sc.
VOCAL


Ing. EDGAR A. MALDONADO DUQUE
SECRETARIO

PIURA, PERÚ

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE AGRONOMÍA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS 078-2018-UIFA-UNP

Los miembros del jurado calificador que suscriben, congregados para estudiar el Trabajo de Tesis denominado "HONGOS ASOCIADOS A INFECCIONES EN LA ZONA DE INJERTACIÓN DE PLANTAS DE VID Y EFICACIA DE *Trichoderma harzianum* EN SU CONTROL", conducido por la BR. DARCY JAKELINE MARCHAN ABAD asesorado por el Ing. Javier Javier Alva M.Sc.

Luego de oídas las observaciones y respuestas a las preguntas formuladas, la declaran APROBADA, en consecuencia queda en condiciones de ser calificada APTA para gestionar ante el Consejo Universitario de la Universidad Nacional de Piura, el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo de conformidad con lo estipulado en el artículo N° 171, inciso 2° del Estatuto General de la Universidad Nacional de Piura.

Piura, 02 de Octubre del 2018.

Dr. Cesar A. Murguía Reyes
Presidente

Ing. Angelino Córdova Peña M.Sc.
Vocal

Ing. Edgar A. Maldonado Duque
Secretario

Dedicatoria

Con todo mi amor y cariño a mis queridos padres que son pilares fundamentales en mi vida, los admiro por su calidad humana e intelectual, por su amor y por su ejemplo de perseverancia y constancia que me sirve siempre para salir adelante.

A mis queridos hermanos quienes supieron brindar su apoyo día a día a lo largo de mi formación universitaria.

A mi hermano José Edgardo, quien aunque no esté físicamente con nosotros sé que desde el cielo me cuida y me guía para que todo me salga bien.

A mis queridos sobrinos (as) para que vean un ejemplo seguir.

Darcy Jakeline Marchán Abad

Agradecimiento

A Dios por guiarme y transmitirme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en problemas que se presentan en el camino.

A mis padres José Yomo Marchan Yahuana y Maria América Abad Febre porque siempre me apoyan incondicionalmente en búsqueda de mi realización como persona y como profesional para salir adelante con superación y entrega, gracias a ustedes por haber alcanzado una meta, por estar conmigo en los momentos más difíciles de mi carrera y por el orgullo que sienten por mí, que me permitió llegar a ser Ingeniera Agrónoma. Agradezco a ustedes por todo este apoyo.

A mis hermanos Hugo, Yohel, Diomer, Emer y Yomo por haber fomentado en mí el deseo de superación, por sus palabras de aliento para seguir adelante y siempre sea perseverante para la realización de mis ideales.

A mi familia Cagallaza Marchán, Peña Marchán, mi madrina Florita y todos los demás familiares por todo su apoyo q me brindaron.

Al doctor Javier Javier Alva, quien se tomó el arduo trabajo de transmitirme sus diversos conocimientos, especialmente del campo y de los temas que corresponden a mi profesión.

A mi amiga y compañera Leydi Aguilar Calle por su constante apoyo. Gracias a ti.

A todas las personas que de una manera otra colaboraron con mi trabajo.

Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo su comprensión en los momentos difíciles.

RESUMEN

Los objetivos de esta investigación realizada en viveros “El Tambo” durante los años 2016-2017 fueron aislar e identificar hongos de plantas madre portainjertos sanas, aislar e identificar hongos de las uniones injerto/patrón en plantas jóvenes, realizar pruebas de patogenicidad y evaluar su control con fungicidas biológicos. Los aislados fungosos se obtuvieron en medio Papa-Dextrosa-Agar y se identificaron por sus características microscópicas y en medio de cultivo. Las pruebas de patogenicidad se hicieron colocando un pequeño trozo de agar + micelio de los diferentes aislamientos fungosos en la zona de injertación en injerto omega, las pruebas de control co-inoculando *Trichoderma* con *Cylindrocarpon* sp. 04 a la injertación y aplicando tres riegos semanales vía drench con 200 ml del extracto vegetal biológico Licthor a 5000 ppm. De la base del tallo y cargadores de plantas madre sanas Salt Creek y Freedom, se aisló *Phaeoacremonium* spp., de raíces y base de tallo se aisló *Cylindrocarpon* spp. A 70 días después del trasplante a bolsa, el aislamiento *Cylindrocarpon* sp. 04 tuvo el mayor grado de patogenicidad medido por menor follaje, mayor daño en la zona de injertación y menor masa de raíces. En las evaluaciones de control de *Cylindrocarpon* sp. 04 a los 60 días, el tratamiento *Trichoderma* + Licthor, si bien no demostró el mejor control, mejoró significativamente el vigor de las plantas medido por un significativo menor daño en la zona de injertación y significativa mayor masa de raíces. Los tratamientos con *Trichoderma* y Licthor por separado, fueron significativamente superiores que el tratamiento con *Cylindrocarpon* sp. 04. Hongos que no se inocularon mayormente *Cylindrocarpon* y *Botryosphaeria* aparecen continuamente, sugiriendo que vienen de material madre o penetran durante las operaciones de injertación o por heridas en vivero. Se debe investigar la presencia de hongos patógenos durante cada una de las fases del proceso de producción de nuevas plantas de vid y continuar con los ensayos de control.

Palabras clave: Necrosis en zona de injertación, patogenicidad, grado severidad, *Cylindrocarpon* sp., fungicida.

ABSTRACT

The aims of this research carried out in nurseries "El Tambo" during the years 2016-2017 were to isolate and identify fungi of healthy rootstock mother plants, isolate and identify fungi of the graft/pattern unions in young plants, perform pathogenicity tests and evaluate their control with biological fungicides. The fungal isolates were obtained in Papa-Dextrose-Agar medium and were identified by their microscopic characteristics and in culture medium. The pathogenicity tests were done by placing a small piece of agar + mycelium of the different fungal isolations in the omega grafting area, the control tests co-inoculating *Trichoderma* with *Cylindrocarpon* sp. 04 at the grafting area and applying three weekly irrigations via drench with 200 ml of biological plant extract Licthor at 5000 ppm. *Phaeoacremonium* spp. was isolated from the stem base and loaders of healthy mother plants Salt Creek and Freedom and *Cylindrocarpon* spp. was isolated from roots and stem base. At 70 days after the bag transplant, the isolate *Cylindrocarpon* sp. 04 had the highest pathogenicity degree measured by lower foliage, greater damage in the grafting area and lower root mass. In the control evaluations of *Cylindrocarpon* sp. 04 at 60 days, the *Trichoderma* + Licthor treatment, although it did not show the best control, significantly improved the plants vigor measured by a significant lower damage in the grafting area and significant higher root mass. Treatments with *Trichoderma* and Licthor separately were significantly superior to treatment with *Cylindrocarpon* sp. 04. Fungi that were not inoculated mostly *Cylindrocarpon* and *Botryosphaeria* appear continuously, suggesting that they come from mother material or penetrate during grafting operations or by nursery wounds. The presence of pathogenic fungi should be investigated during each of the phases of the production process of new vine plants and continue with the control trials.

Key words: Necrosis in grafting zone, pathogenicity, severity degree, *Cylindrocarpon* sp., fungicide.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: ASPECTOS DE LA PROBLEMÁTICA	2
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA	2
1.2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. General	4
1.3.2. Específicos	4
1.4. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	5
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	5
2.2. BASES TEÓRICAS	6
2.2.1. El hospedante	6
2.2.2. Enfermedades causadas por hongos de la madera	9
2.3. HIPÓTESIS	14
2.3.1. Hipótesis general	14
2.3.2. Hipótesis específicas	14
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	15
3.1. ENFOQUE	15
3.2. DISEÑO	15
3.3. NIVEL	15
3.4. TIPO	15
3.5. SUJETOS DE LA INVESTIGACIÓN	15
3.6. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS	15
3.6.1. Lugar y periodo de ejecución	15
3.6.2. Toma de muestras	15
3.6.3. Aislamiento e identificación de hongos	16
3.6.4. Pruebas de patogenicidad de los aislamientos fungosos obtenidos de la zona de injertación de plantas jóvenes enfermas	18
3.6.5. Evaluaciones de la severidad de los aislamientos fungosos	22

3.6.6. Evaluaciones de severidad en las combinaciones patrón / variedad	22
3.6.7. Reaislamiento de hongos	22
3.6.8. Eficacia del antagonista biológico <i>Trichoderma</i> frente al aislamiento fungoso virulento	23
3.6.9. Evaluaciones de la eficacia de los tratamientos	23
3.6.10. Evaluaciones de la eficacia de los tratamientos en las combinaciones patrón/variedad	23
3.6.11. Reaislamiento	23
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1. RESULTADOS	28
4.1.1. Hongos identificados	28
4.1.2. Patogenicidad de los aislamientos fungosos	34
4.1.3. Eficacia de <i>Trichoderma harzianum</i> frente a <i>Cylindrocarpon</i> sp. 04.	42
4.2. DISCUSIÓN	51
CONCLUSIONES	55
RECOMENDACIONES	55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1	Aislamiento de hongos de la zona de injertación de plantas enfermas	17
Fig. 2	Proceso seguido en las pruebas de patogenicidad de los aislamientos fungosos obtenidos de la zona de injertación	20
Fig. 3	Proceso seguido para el trasplante de las estacas a bolsas en vivero	21
Fig. 4	Evaluación de la severidad de los aislamientos fungosos	25
Fig. 5	Plantas de vid inoculadas con <i>T. harzianum</i> en vivero	27
Fig. 6	Hongos aislados de plantas madres sanas y de la zona de injertación de plantas enfermas.	33
Fig. 7	Colonias de hongos reaislados y de otros hongos de la zona de injertación	41
Fig. 8	Hongos aislados de la zona de injertación en plantas de vid con diferentes tratamientos	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Tratamientos para evaluar la eficacia de <i>T. harzianum</i> frente a un aislamiento fungoso virulento	26
Tabla 2	Hongos de plantas madre aislados e identificados	30
Tabla 3	Hongos aislados e identificados en la zona de injertación de plantas de vid	32
Tabla 4	Prueba comparativa de medias de Duncan efecto de los hongos sobre los parámetros en estudio 70 días después del trasplante	36
Tabla 5	Prueba comparativa de medias de Duncan efecto de los hongos en las combinaciones variedad/patrón	36
Tabla 6	Hongos reaislados de la zona de injertación 70 días después de la inoculación	38
Tabla 7	Prueba comparativa de medias de Duncan eficacia de <i>T. harzianum</i> en el control de <i>Cylindrocarpon</i> sp. 04	44
Tabla 8	Prueba comparativa de medias de Duncan eficacia de <i>Trichoderma</i> en el control de <i>Cylindrocarpon</i> sp. 04 en cuatro combinaciones patrón/variedad	44
Tabla 9	Hongos reaislados de la zona de injertación en cuatro combinaciones patrón/variedad	46

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Graf. 1	Frecuencia de hongos reaislados de la zona de injertación de plantas inoculadas con diferentes aislamientos fungosos	40
Graf. 2	Hongos aislados de la zona de injertación de plantas inoculadas con <i>Cylindrocarpon</i> sp. 04 y co inoculadas con <i>T. harzianum</i>	49

ÍNDICE DE ANEXO

Tabla 10	ANVA efecto de hongos en el aspecto del follaje	64
Tabla 11	ANVA efecto de hongos en la altura del follaje	64
Tabla 12	ANVA efecto de hongos en el peso fresco del follaje	64
Tabla 13	ANVA efecto de hongos en el diámetro de la variedad	64
Tabla 14	ANVA efecto de hongos en severidad de la necrosis zona injertación	65
Tabla 15	ANVA efecto de los hongos en peso fresco del tallo	65
Tabla 16	ANVA efecto de los hongos en la severidad en raíces	65
Tabla 17	ANVA efecto de los hongos en la longitud de las raíces	65
Tabla 18	ANVA efecto de los hongos sobre el peso fresco de raíces	66
Tabla 19	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> en el aspecto del follaje	66
Tabla 20	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> en altura del follaje	66
Tabla 21	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> en peso seco del follaje	66
Tabla 22	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> sobre el diámetro de variedades	67
Tabla 23	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> en severidad necrosis injertación	67
Tabla 24	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> en peso seco del tallo del patrón	67
Tabla 25	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> en la severidad en raíces	67
Tabla 26	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> sobre la longitud de raíces	68
Tabla 27	ANVA efecto <i>Trichoderma</i> sobre el peso seco de raíces	68
Graf. 3	Severidad de los hongos en follaje de las variedades	69
Graf. 4	Severidad media de los hongos en follaje de las variedades	69
Graf. 5	Efecto de los hongos en la altura del follaje de las variedades	69
Graf. 6	Efecto de los hongos en la altura media del follaje de las variedades	69
Graf. 7	Efecto de los hongos en el peso fresco del follaje de las variedades	69
Graf. 8	Efecto de los hongos en el peso fresco medio del follaje de las variedades	69
Graf. 9	Efecto de los hongos sobre el diámetro de las variedades	70
Graf. 10	Efecto de los hongos sobre el diámetro medio de las variedades	70
Graf. 11	Efecto de los hongos en la severidad de la necrosis en zona de injertación	70
Graf. 12	Efecto de los hongos en la severidad media en la zona de injertación	70
Graf. 13	Efecto de los hongos sobre el peso fresco del tallo de los patrones	70
Graf. 14	Efecto de los hongos sobre el peso fresco medio del tallo de los patrones	70

Graf. 15	Efecto de los hongos sobre el aspecto de las raíces de los patrones	71
Graf. 16	Efecto de los hongos sobre el aspecto medio en las raíces de los patrones	71
Graf. 17	Efecto de os hongos sobre la longitud de las raíces de los patrones	71
Graf. 18	Efecto de los hongos sobre la longitud media de las raíces de los patrones	71
Graf. 19	Efecto de os hongos sobre el peso fresco de las raíces de los patrones	71
Graf. 20	Efecto de los hongos sobre el peso fresco medio de las raíces	71
Graf. 21	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el aspecto del follaje	72
Graf. 22	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el aspecto medio del follaje	72
Graf. 23	Efecto de <i>Trichoderma</i> en la altura del follaje de las variedades	72
Graf. 24	Efecto de <i>Trichoderma</i> en la altura media del follaje de las variedades	72
Graf. 25	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el peso seco del follaje de las variedades	72
Graf. 26	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el peso seco medio del follaje de las variedades	72
Graf. 27	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el diámetro de las variedades	73
Graf. 28	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el diámetro medio de las variedades	73
Graf. 29	Efecto de <i>Trichoderma</i> en la severidad de la zona de injertación	73
Graf. 30	Efecto de <i>Trichoderma</i> en la severidad media zona de injertación	73
Graf. 31	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el peso seco del tallo de los patrones	73
Graf. 32	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el peso seco medio del tallo de los patrones	73
Graf. 33	Efecto de <i>Trichoderma</i> en la severidad de raíces de patrones	74
Graf. 34	Efecto de <i>Trichoderma</i> en la severidad media de raíces de los patrones	74
Graf. 35	Efecto de <i>Trichoderma</i> en la longitud de raíces de patrones	74
Graf. 36	Efecto de <i>Trichoderma</i> en la longitud media de raíces de patrones	74
Graf. 37	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el peso seco de raíces de los patrones	74
Graf. 38	Efecto de <i>Trichoderma</i> en el peso seco medio de raíces de los patrones	74

INTRODUCCIÓN

La vid *Vitis vinífera* L, en el norte del Perú es un monocultivo introducido vulnerable a plagas y enfermedades a través del tiempo, por lo que requiere especial atención en la identificación oportuna de los problemas fitosanitarios que se van presentando en busca de su solución sostenida.

El presente trabajo de investigación a nivel de tesis de pre grado está enmarcado en el área de Fitopatología, estudio de hongos que colonizan y causan necrosis en la zona de injertación patrón/variedad de los sarmientos para la producción de nuevas plantas de vid en vivero.

En una primera fase, se aislaron hongos endófitos de plantas madre sanas y de la zona de injertación de plantas jóvenes con síntomas de la enfermedad de Petri en diferentes campos de vid.

En una segunda fase, se realizaron pruebas de patogenicidad inoculando los diferentes aislamientos fungosos obtenidos en la línea de unión patrón/variedad durante el proceso de injertación y después de setenta días se seleccionó un aislamiento virulento basado en sus mayores grados de patogenicidad en follaje, zona de injertación y raíces.

En la última fase, se co-inoculó el hongo antagonista *Trichoderma* con el aislamiento fungoso virulento en la línea de unión durante el proceso de injertación y después de sesenta días de estar las plantas en vivero, se evaluó su eficacia basada en menores grados de severidad de la enfermedad en follaje, zona de injertación y raíces.

Los resultados de la investigación en la presente tesis se discuten y comparan con los obtenidos en otras investigaciones realizadas a nivel mundial, citando diferentes autores especialistas en el tema.

Finalmente, se incluyen las conclusiones y recomendaciones a las que luego de la investigación se llegaron, seguido de la bibliografía consultada y de los respectivos anexos que permiten conocer y aclarar aspectos de los procedimientos y análisis estadísticos que se llevaron a cabo en la ejecución, especialmente los cuadros complementarios más importantes, obtenidos durante el proceso de tabulación de datos.

CAPÍTULO I

ASPECTOS DE LA PROBLEMÁTICA

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

El decaimiento y muerte de plantas jóvenes de vid una vez instaladas en campo definitivo es un serio problema que padecen las empresas agrícolas dedicadas al rubro de exportación de uva de mesa en Piura. La literatura reporta como problemas principales al “pie negro” de la vid causada por *Cylindrocarpon* spp. y la enfermedad de “Petri” en plantas jóvenes de vid causada por hongos patógenos vasculares como *Phaeoacremonium* spp., *Phaeomoniella chlamydospora* y *Cadophora luteo-olivacea*. Ciertamente, los primeros estudios realizados en Piura por Javier-Alva *et al.* (2013) reportaron al hongo *Cylindrocarpon* sp. Asociado a la necrosis subcortical de la base del tallo de plantas patrones de vid Freedom, Salt Creek y MGT 101-14 y, a los hongos *Phaeomoniella Chlamydospora* y *Phaeoacremonium* spp. Asociados al decaimiento y muerte de la vid. Posteriormente, López y Javier-Alva (2013) identificaron microscópicamente los hongos *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium parasiticum*, *Pm. krajdennii* y *Pm. inflatipes* causando la enfermedad de “Petri” de la vid. En ambos estudios se postuló que la fuente de inóculo de estos patógenos eran las varetas procedentes de plantas madres tanto para patrón como para yemas donde viven asintóticamente y, que los estreses a que son sometidas las plantas durante la fase de vivero, son predisponentes para su desarrollo una vez trasplantadas en campo definitivo. Sin embargo, viene llamado continuamente la atención que muchas plantas jóvenes enfermas de hasta 01 año de edad en campo no presentan síntomas de estar afectados por hongos vasculares en el patrón ni en la variedad. Al realizar cortes y descubrir la zona del injertación de estas plantas, se observa una necrosis con diferentes grados de avance que parte desde la línea de injertación hacia la corteza, indicando la presencia de hongos. Hasta el momento, se han aislado preliminarmente algunos géneros de hongos asociados a este problema; pero, no se conoce cuáles son los agentes primarios y cuáles serían los secundarios. De hecho, la presencia de hongos en la zona necrosada del patrón/injert, tendría mucha importancia y explicaría en muchos casos el origen del debilitamiento y/o muerte de las plantas en campo. Se tiene como antecedente los estudios hechos por Halleen *et al.* (2003) quienes aislaron frecuentemente especies de

Phaeoacremonium de las uniones injerto-patrón de esquejes de vid antes y después del plantado en operaciones de vivero, indicando que estas infecciones derivaron de material madre infectado o mediante operaciones de vivero. Zanzotto *et al.* (2001), también encontraron especies de *Phaeoacremonium* en plantas injertadas certificadas de 01 año de edad a pesar de encontrar muy baja infección en el patrón y en esquejes del injerto hechos de la correspondiente planta madre.

1.2 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

La pérdida de vigor y la sobrevivencia de plantas de vid para producción de uva de mesa con fines de exportación en Piura, se ha incrementado en campo debido al crecimiento acelerado de áreas de cultivo que dio lugar a una gran demanda por material de propagación. Esto, ha, incrementando el riesgo de adquirir plantas de mala calidad e infectadas por hongos asociados a las enfermedades de la madera con impacto negativo en los costos de producción por la adquisición de nuevas plantas para recalce, gastos de instalación y retraso en el inicio de la fase productiva.

La importancia del decaimiento y muerte de plantas jóvenes debido a infecciones en la línea de injerto vástago/patrón radica en que es un problema crítico tanto para las empresas viveristas como para las empresas agrícolas que se dedican a la producción de uva de mesa fresca para exportación y merece ser estudiado en la fase de vivero. Se sabe que, algunas labores que se realizan en viveros, como la hidratación, condiciones de almacenamiento refrigerado y ausencia de higiene, podrían facilitar el ingreso de hongos en la zona de la herida del injerto, afectando la calidad de las plantas de vid producidas. Se conoce que las fuentes de infección más probables son los sarmientos infectados que provienen de plantas madres infectadas o por la contaminación de las herramientas o materiales utilizados en el proceso de propagación. La realización de este estudio permitirá determinar el rol de los hongos asociados a la esta enfermedad como primarios o secundarios y, permitirá conocer el nivel de antagonismo del hongo biocontrolador *Trichoderma harzianum*. El beneficio será para las empresas viveristas y empresas agrícolas dedicados a la producción de uva de mesa.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 General

Aislar, identificar y controlar biológicamente hongos asociados a la necrosis en la zona de injertación variedad/patrón de plantas de vid.

1.3.2 Específicos

1. Aislar e identificar microscópicamente hongos endófitos de plantas madre sanas y de la zona de injertación de plantas jóvenes con síntomas de la enfermedad de Petri.
2. Realizar pruebas de patogenicidad de los hongos obtenidos de la zona de injertación de plantas enfermas.
3. Evaluar la eficacia del hongo antagonista *Trichoderma* en el control de la enfermedad.

1.4 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Es una investigación en el área de Fitopatología enfocada en enfermedades del cultivo de vid para producción de uva de mesa causadas por hongos que infectan la zona de injertación y que luego afectan la vida de la planta en campo, obligando a resiembras con incrementos en costos. La infección ocurre durante el proceso de injertación en los viveros comerciales. Se busca aislar e identificar los hongos que se encuentran asociados a la enfermedad en plantas jóvenes con síntomas de decaimiento en diferentes campos y viveros de vid en Piura y, determinar los aislamientos con mayor grado de patogenicidad. Posteriormente, mediante ensayos de control con un antagonista biológico y un fungicida biológico, busca determinar las posibilidades de manejo de estos hongos. Se abre una nueva línea de investigación referida al control de patógenos que afectan la zona de injertación durante el proceso de propagación vegetativa de plantas usando portainjertos y variedad.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

A nivel internacional

Según Gramaje y Armengol (2011), las enfermedades de la madera de la vid pueden estar presentes ya en el plantón de vid que se adquiere en el vivero

Halleen *et al.* (2003) aislaron frecuentemente especies de *Phaeoacremonium* de las uniones injerto-patrón de esquejes de vid antes y después del plantado en operaciones de vivero, indicando que estas infecciones derivaron de material madre infectado o mediante operaciones de vivero.

Zanzotto *et al.* (2001) encontraron especies de *Phaeoacremonium* en plantas injertadas certificadas de 01 año de edad a pesar de encontrar muy baja infección en el patrón y en esquejes del injerto hechos de la correspondiente planta madre.

Gramaje.

A nivel nacional

Javier-Alva *et al.* (2013) realizaron un estudio preliminar de hongos asociados al decaimiento y muerte de plantas jóvenes de vid en Piura, encontrando a *Cylindrocarpon* sp. asociado a la necrosis subcortical de la base del tallo de plantas y, *Pa. chlamydospora* y *Phaeoacremonium* sp., asociados a estrías necróticas de haces vasculares de plantas con síntomas de decaimiento y muerte del follaje.

López y Javier-Alva (2013) caracterizaron cultural y microscópicamente los hongos *Phaeomoniella chlamydospora*, *Pm. parasiticum*, *Pm. krajdinii* y *Pm. inflatipes*, causando la enfermedad de Petri de la vid en Piura.

Morales *et al.* (2013), encontró que estacas del patrón R-110 inoculadas con *Campilocarpon pseudofasciculare*, tuvieron un índice de daño significativamente mayor en el sistema radicular y significativamente menor peso seco de masa radicular que las estacas tratadas con el antagonista bacteriano Bac-4.

Morales *et al.* (2013) 100 días después de tratar estacas de vid R-110 con antagonistas bacterianos y fungos y 70 días después de la inoculación con el patógeno vascular *Pm. parasiticum*, inhibieron significativamente el avance de las estrías necróticas causadas por el patógeno, varios antagonistas influenciaron

significativamente en un mayor peso seco de la raíz y mayor longitud de brote en la zona inoculada con el patógeno.

Tejada (2013) en los diferentes fundos agrícolas evaluados en la región Ica, encontró 12,8 % de plantas enfermas y asociados los hongos *Cylindrocarpon* sp., *Lasiodiplodia theobromae*, *Phaeoacremonium* y *Pa. chlamydospora*.

Javier-Alva (2018) demostró efecto inhibitorio *in vitro* del extracto vegetal Lichthor y del producto a base de ácidos orgánicos Tower L frente a los patógenos de la madera *Lasiodiplodia theobromae*, *Cylindrocarpon* sp. y *Pm. Parasiticum*

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 El hospedante

Posición taxonómica. - De acuerdo a Sotes *et al* (1989), la vid pertenece a:

Tipo	: Fanerógamas
Sub Tipo	: Angiospermas
Clase	: Dicotiledóneas
Grupo	: Dialipétalas
Orden	: Ramnales
Familia	: Vitaceae
Género	: Vitis
Especie	: <i>Vitis vinifera</i> L.

Origen y usos

La vid *Vitis vinifera* L. es, junto con el trigo, uno de los cultivos más antiguos que comenzó aproximadamente hace cuatro mil años en la parte oriental del Mar Negro, en Transcaucasia, en los territorios correspondientes actualmente a Georgia, Armenia y Azerbaidjan (Sotes *et al.*, 1989).

La uva, su fruto, se utiliza para consumo en fresco o como conserva bajo forma de pasas y también para la producción del vino (Hidalgo, 2002). Desde el siglo V hasta el Renacimiento, la viticultura fue mantenida y mejorada en Europa por las órdenes religiosas y la nobleza. Posteriormente, la colonización española expandió la producción y consumo del vino por el Nuevo Mundo (Surico, 2000).

El género *Vitis* se subdivide en los géneros *Muscadinia* y *Euvitis*. El género *Muscadinia* (2n=40 cromosomas) tiene una sola especie cultivada (*V. rotundifolia*) de gran interés por su resistencia a Filoxera (*Dactylosphaera vitifoliae*) y otras enfermedades. La mayor parte de las vides cultivadas pertenecen al subgénero *Euvitis* (2n=38 cromosomas), el cual se subdivide en tres grandes grupos geográficos: americano, asiático y europeo. El primer grupo abarca 20 especies con gran potencial por su resistencia a filoxera, destacando *V. rupestris*, *V. berlandieri* y *V. riparia*. El grupo asiático tiene 20 especies de escasa relevancia y el grupo europeo tiene una única especie *V. vinifera*, que representa el total de uvas cultivadas para la producción de uva y vitivinificación en el mundo entero muy sensible a filoxera y a otras enfermedades. Según Chomé citado por Martín Blanco (2012) Dentro de la especie *V. vinifera*, se conocen varios miles de variedades o cultivares identificadas en base a caracteres morfológicos y morfométricos, variedad debida a la selección natural y al trabajo humano realizado para adaptar el cultivo a las necesidades de la producción.

Características generales de la planta

La vid es un arbusto sarmentoso y trepador con ramas que se apoyan y fijan a tutores naturales o artificiales mediante zarcillos, en las zonas opuestas a las hojas se ubican los zarcillos o las inflorescencias. Es muy longevo y puede superar en algunos casos los 100 años de vida. Su tallo tortuoso con corteza exfoliable; ramas nudosas y flexibles, las de un solo año se llaman sarmientos y son los únicos capaces de producir brotes fructíferos y ramos de fruto, se deben considerar como ramas mixtas, puesto que dan origen también a brotes herbáceos. Médula gruesa y floja, la cual forma siempre parte de la yema inferior y está separada de la superior por un trazo leñoso, llamado diafragma. Las yemas u ojos se encuentran a lo largo del sarmiento y excepcionalmente sobre el leño más viejo. De la yema fructífera nace el brote, llamado también pámpano mientras es herbáceo, el cual, empezando por la parte opuesta de la tercera hoja, lleva los frutos. Hojas dísticas, alternan sobre dos caras opuestas del sarmiento, enteras, tri o quinquelobadas. Zarcillos opuestos a cada hoja si no lleva, racimos y en uva de mesa se suelen suprimir como producciones inútiles. Racimos, de uno hasta cuatro, opuestos a las hojas y dispuestos como los zarcillos siendo la primera ramificación del racimo casi siempre una especie de zarcillo. Flores pequeñas, verdosas, hermafroditas, con cáliz pequeñísimo, quinquendado; corola de cinco pétalos, inserta sobre el borde externo

del disco hipógino; pétalos soldados entre sí por el ápice, de modo que en la caída de las flores caen los pétalos unidos entre sí a manera de una pequeñísima caperuza y dejan descubiertos los cinco estambres. Anteras biloculares, versátiles, ovario libre, con dos celdas que encierra cada una dos óvulos.

El fruto es una baya carnosa, succulenta, que encierra de una a cuatro semillas, según la fecundación. Las semillas o pepitas con testa crustácea, cubierta de epidermis delgada y con la radícula revuelta hacia la base del fruto (Tamaro, 1987). Tiene raíces verdaderas que producen abundante alimento y las radículas.

Ambiente ecológico

Clima. - CONAFRUT (1996), afirma que en el Perú se cultivan variedades de uva de la especie *V. vinifera* y variedades resultado del cruzamiento con vides americanas, ampliando su cultivo además de zonas de clima templado hacia zonas subtropicales y tropicales, permitiendo producción todos los meses del año.

En las zonas de clima templado en la costa central y sur del país, las variedades de *V. vinifera* tienen ventajas comparativas para lograr calidad de fruta que demandan los países del hemisferio norte en contra estación. Sotes *et al* (1989), mencionan que la vid es exigente en calor, sensible a las fuertes heladas invernales (a partir de -15°C) y a las heladas de primavera, es un cultivo de la parte cálida de las zonas templadas. La floración, fecundación y la maduración exigen una temperatura y una insolación suficientes al final del verano. El clima actúa en la fisiología y en particular en la fotosíntesis, la transpiración (por lo tanto, en las corrientes de savia bruta) y, en la evolución y reparto de los productos de la fotosíntesis. La fluctuación del rendimiento está en relación directa con las condiciones climáticas del año (Sotes *et al.*, 1989).

Suelos. – Adaptada a una gran diversidad de suelos, pero prefieren suelos sueltos, profundos, con pH 5.6 a 7.7, pero evitar suelos pesados, con mal drenaje, tiene ciertas condiciones de resistencia a la sequía y sales en el suelo. Suelos con alta CE, o con alto porcentaje de sodio cambiante (15%) no son aparentes (Medina, 2005).

Importancia de la vid

La superficie mundial de vid se encuentra en torno a los 7,4 millones de ha con una producción total de 66.679.229 t. España se sitúa en el primer lugar en cuanto a superficie cultivada con 1.176.133 ha, y el tercero en cantidad de toneladas producidas

(FAO, 2008). Es seguido por Francia con 852 000 ha Italia (840 000 h), Turquía (530 000 ha), China (438 000 ha), Estados Unidos (377 000 ha) y otros. En el Perú hasta el año 2013 había un total de 11 163 ha cultivadas de uva de mesa, destacando la variedad Red Globe con el 73% del área cultivada, ocupando en primer lugar Ica con 5 786 ha, seguido de Piura con 3 510 ha (AGROREPORTS, 2014). Según la revista GESTION (2017) el Perú ya se ha consolidado como el segundo exportador de uvas a Estados Unidos y quinto en el mundo, las exportaciones peruanas al 2015 superaron por primera vez los \$ 700 millones el año 2015. Esto, sin duda, se debe a que en Piura, aunque no hay datos estadísticos oficiales, se estima el área sembrada bordea las 9 000 ha, superando largamente a Ica.

2.2.2 Enfermedades causadas por hongos de la madera

El término “*enfermedades fúngicas de la madera de la vid*” incluye a todas aquellas enfermedades causadas por hongos que afectan a la madera de la vid provocando su deterioro y, luego, en un plazo de tiempo indeterminado, la muerte de parte de la planta o de la planta entera. Tradicionalmente, se han asociado principalmente a dos patologías: yesca y eutipiosis que afectan mayoritariamente a plantas adultas de más de diez años de edad. A partir de la década de 1990, coincidiendo con el establecimiento de numerosas plantaciones nuevas, se comenzó a detectar en diferentes regiones del mundo, un aumento en el decaimiento y muerte progresiva de plantas en viveros y en plantas jóvenes ya desde el primer año de la plantación. Este fenómeno también se ha observado durante el proceso de producción de plantas en los viveros, situación que provocó un renovado interés en el estudio de estas enfermedades, impulsando el desarrollo de nuevas líneas de investigación en todo el mundo (Mugnai *et al.*, 1999; García-Jiménez, 2004). Esto, se relacionó con una reducción en el cuidado sanitario del material de propagación, con los cambios en las prácticas culturales y manejo del viñedo como la escasa protección de las heridas de poda en el campo y finalmente, la prohibición del uso del arsenito de sodio (Chiarappa, 2000; Graniti *et al.*, 2000). Las enfermedades fúngicas de la madera de la vid pueden estar causadas por un elevado número de especies que pueden afectar a plantas de diferentes edades. Estos hongos se agrupan en una serie de patologías que pueden ocurrir independientemente, en forma simultánea, o incluso ser precursoras unas de otras en la misma planta (Mugnai *et al.*, 1999). Estas enfermedades son erráticas en la aparición de los síntomas

en función de varios factores, entre ellos las condiciones climáticas, principalmente humedad y temperatura.

Enfermedad de Petri

Descrita por el investigador italiano Lionello Petri en 1912, afecta principalmente a cepas jóvenes y causa importantes pérdidas económicas en las nuevas plantaciones (Bertelli *et al.*, 1998). Los hongos descritos como agentes causales de la enfermedad de Petri son *Phaeoacremonium* spp., *Phaeomoniella chlamydospora*. Se considera que la enfermedad de Petri puede ser precursora de la yesca.

Se caracteriza por un crecimiento débil y lento, con brotaciones raquílicas, menor calibre en el tronco, hojas pequeñas y cloróticas y agostamiento prematuro. Se produce una reducción de la biomasa radicular lo que provoca que las plantas afectadas mueran tempranamente. Al efectuar cortes transversales se observan coloraciones oscuras, generalmente en forma de anillo, en los elementos vasculares, que con el tiempo suelen emitir una exudación gomosa de color negro que actúa de mecanismo de defensa frente a la invasión de hongos. En los cortes longitudinales se observan vasos necrosados adyacentes a la médula.

Pie negro de la vid

Detectada por primera vez en Francia en 1961 y afecta a plantas jóvenes de entre 2-10 (Petit y Gubler, 2005). Se asocia a distintas especies del género *Cylindrocarpon*, en España principalmente a *C. macrodidymum* y *C. liriodendri* (Alaniz *et al.*, 2007). Se caracteriza porque las plantas presentan escaso vigor, con tallos de pequeño grosor, acortamiento de entrenudos, follaje escaso y hojas pequeñas con clorosis internerviales y necrosis (García Jiménez, 2004). En la parte subterránea de la planta suelen observarse dos niveles radiculares. En el primer nivel, las raíces parecen normales repartidas uniformemente y en general son poco profundas; en el segundo nivel, las raíces suelen estar necrosadas. En cortes longitudinales pueden observarse oscurecimiento de los vasos xilemáticos; en cortes transversales se pueden observar necrosis que se desarrollan desde la periferia a la médula del porta injerto (Halleen *et al.*, 2004). En algunos casos la diferenciación entre enfermedad de Petri y Pie Negro resulta difícil, encontrándose infecciones conjuntas.

En Piura Morales *et al.* (2013) en pruebas *in vivo* en invernadero, demostraron que estacas del patrón de vid R-110 inoculadas con *Campilocarpon pseudofasciculare* se tuvieron un índice de daño significativamente mayor en el sistema radicular y significativamente menor peso seco de masa radicular que las estacas tratadas con el antagonista bacteriano Bac-4. Morales *et al.* (2013) demostraron que el hongo *Trichoderma* sp. ejerció un grado de inhibición y parasitismo a nivel *in vitro* frente a *Phaeoacremonium parasiticum* y que antagonistas bacterianos y fungosos inhibieron significativamente el avance de las estrías necróticas causadas por este patógeno e influyendo en un mayor peso seco de la raíz y mayor longitud de brote en la zona inoculada.

Yesca o apoplejía

Es una de las enfermedades de la vid más antiguas que se conocen, y se considera endémica en casi todas las zonas vitivinícolas mundiales afectando principalmente a cepas de más de 25 años (Surico *et al.*, 2006). Se caracteriza por presentar decoloraciones y necrosis internerviales de color amarillento o pardo en las variedades de uva blanca y de un color rojizo en las tintas. Esta sintomatología comienza afectando a las hojas basales y se va extendiendo al resto de la planta. Puede afectar a la vegetación de uno o varios brazos de cepas generalmente aisladas. Los síntomas aparecen después de la floración, principalmente durante el verano. El síndrome de apoplejía (desarrollo rápido de la enfermedad) suele darse en climas cálidos y en pleno verano, cuando a días tormentosos o de cielo nublado suceden otros despejados y con altas temperaturas. Las plantas, generalmente sin ningún tipo de síntomas hasta entonces, se marchitan, la vegetación de la cepa toma una coloración verde grisácea y -acaba secándose parcial o totalmente en unos pocos días, comenzando por las hojas de los extremos de los sarmientos. En los cortes transversales de la madera de brazos y troncos afectados aparecen zonas necrosadas de color oscuro que posteriormente se agrandan, amarillean en el centro y conservan un tono oscuro en el borde, luego los tejidos que se encuentran en el centro se desorganizan y se tornan blandos y esponjosos (Sánchez-Torres *et al.*, 2008).

Aún no se ha esclarecido si es un complejo de enfermedades o una misma enfermedad que adquiere distintas sintomatologías en función del hongo predominante o la edad de la planta. En base a ello podemos hablar de Yesca joven cuando afecta acepas jóvenes y los hongos asociados son *Phaeoacremonium aleophilum* y *Phaeomoniella chlamydospora*, presentando síntomas característicos en hojas y pequeñas necrosis de la madera, o Yesca propiamente dicha cuando además de los síntomas mencionados aparecen pudriciones esponjosas en la madera ocasionadas por *F. mediterranea*, y en algunos casos por *Stereum hirsutum* (Surico *et al.*, 2006).

Enfermedades asociadas a miembros de la familia Botryosphaeriaceae

Fue descrita por primera vez en 1974 en Hungría, en la región de Tokaj. Los síntomas aparecen a finales de Mayo en las hojas basales de la planta, las cepas se caracterizan por la existencia de necrosis superficiales de color marrón en brazos y tronco, que pueden observarse al levantar la corteza. Esta necrosis longitudinal puede llegar hasta el punto del injerto. En una sección transversal de la madera, el tejido afectado muestra una decoloración característica sectorial de color negro, llegando a veces hasta la médula. El patógeno se desarrolla en los elementos vasculares, así como en las células adyacentes. En las grietas naturales de la corteza exterior se forman numerosos picnidios negros individualmente o en grupos. Los síntomas en hojas son similares a los desarrollados en plantas con Yesca, aunque en este caso las hojas nunca muestran decoloraciones amarillentas (Larignon *et al.*, 2001). Los síntomas en hojas se pueden confundir fácilmente con los de Yesca lo que ha provocado cierta controversia entre los distintos grupos que se dedican al estudio de ambas enfermedades sobre si constituye una enfermedad en sí misma, o es una variante de Yesca en la que intervienen distintas especies de Botryosphaeriaceae, principalmente *Diplodia seriata* y *Diplodia mutila* (Martos, 2008; Van Niekerk *et al.*, 2006).

Muerte regresiva de la caña por Diplodia.

Se ha descrito principalmente en climas subtropicales o semidesérticos. El agente causal es *Diplodia rhodina*. El secado por Diplodia destruye los sarmientos, pulgares, brazos y madera del tronco. En su forma lenta se caracteriza por brazos de poco vigor con hojas cloróticas más pequeñas que las sanas. En la forma rápida, se secan las yemas, esto se observa en casos de desequilibrio hídrico. En otoño, invierno y

primavera los picnidios negros aparecen en la corteza de los sarmientos enfermos y pulgares y bajo la corteza de los chancros en brazos y troncos (Hewitt, 1996). En cortes transversales, zonas de madera grisácea se extienden desde el exterior del tronco hacia la médula, y pueden llegar a formar necrosis sectoriales como la Eutipiosis por lo que puede confundirse con ésta (Dubos, 2002).

Eutipiosis

En España se diagnosticó por primera vez en vid en 1979 en Tierra de Barros (Badajoz). El organismo causal es *Eutypa lata*. Los inviernos y primaveras lluviosas son favorables para la expansión de la enfermedad. Los síntomas externos se hacen evidentes en los estadios E y F desde finales de mayo a junio. Produce pámpanos débiles, con entrenudos cortos y hojas pequeñas, deformadas y cloróticas. La madera atacada toma un color marrón más o menos oscuro, claramente diferenciado del blanco pajizo de la sana, y se torna dura y quebradiza. Estos síntomas se inician en una o varias heridas y descienden en forma de cuña, siendo visibles al exterior si se eliminan las cortezas (Arias Giralda, 1998). Es debido a la presencia de chancros en forma de cuña por lo que en ocasiones puede confundirse con las enfermedades producidas por especies de la familia Botryosphaeriaceae.

Uno de los problemas que se plantea en el estudio de la Eutipiosis es el lento desarrollo de la enfermedad, ya que pueden pasar años desde que se produce la infección hasta que se manifiestan los primeros síntomas, y además, los daños aparecen a cierta distancia de la zona de infección debido a la acción de una toxina producida por el hongo: la eutipina (Perós y Berger, 1994).

Excoriosis

La excoriosis, causada por *Phomopsis viticola*, afecta a la mayoría de las zonas vitícolas mundiales, aunque los daños son mayores en las zonas donde las primaveras son lluviosas. El hongo se conserva durante el invierno en los picnidios que se encuentran en la madera y las yemas. Cuando se producen las lluvias, se liberan las esporas, las cuales infectan las cepas en estado de desborre (es la principal vía de propagación del hongo). El micelio se desarrolla en la superficie de los brotes jóvenes, avanzando con el crecimiento de los mismos cualesquiera que sean las condiciones climáticas (Pérez Marín, 2004). La excoriosis puede afectar a todos los órganos verdes

de la vid, siendo su sintomatología parecida, pero los daños que ocasiona en cada uno de ellos son diferentes. En los sarmientos se observan manchas alargadas de color negro que evolucionan rápidamente para dar en verano necrosis marrones alargadas y poco profundas. Con el tiempo, estas manchas se vuelven negras y se agrietan. Durante el verano según se lignifican los brotes herbáceos, las áreas necrosadas que rodean a las grietas se cuarteán y su perímetro toma un color blancuzco. Estas zonas poseen numerosos picnidios negros. A medida que se van lignificando los sarmientos se hacen débiles y quebradizos, siendo frecuentes las roturas, especialmente en las zonas de los estrangulamientos que produce la enfermedad (Dubos, 2002).

De las investigaciones realizadas en distintos países se desprende que los hongos generalmente aceptados como asociados a los decaimientos de la vid son *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phomopsis viticola*, *Stereum hirsutum*, *Fomitiporia mediterranea* y *Neofusicoccum parvum* en cuanto a especies se refiere y los géneros *Diplodia* spp., *Dothiorella* spp., *Botryosphaeria* spp., *Cylindrocarpon* spp., *Phaeoacremonium* spp. y *Eutypa* spp. (Cobos, 2008).

2.3 HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis general

- Algunos hongos endófitos asintomáticos en plantas madre se establecen en la zona de injertación patrón/variedad afectando en diferentes grados las nuevas plantas y pueden ser controlados biológicamente.

2.3.2 Hipótesis específicas

- Algunos hongos que se encuentran en plantas madre y en la zona de injertación de plantas jóvenes enfermas pueden ser aislado en medios de cultivo.
- Los hongos aislados de la zona de injertación de plantas enfermas al ser inoculados durante la injertación se establecen y afectan las nuevas plantas.
- El hongo antagonista *Trichoderma harzianum* puede controlar biológicamente los hongos asociados a la necrosis en la zona de injertación.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 ENFOQUE

Deductivo cuantitativo, con muestras aleatorias

3.2 DISEÑO

Cuantitativo experimental

3.3 NIVEL

Descriptivo, explicativo y correlacionado.

3.4 TIPO

Básica aplicada

3.5. SUJETOS DE LA INVESTIGACIÓN

Plantas madres sanas.

Plantas jóvenes enfermas en campo.

Hongos asociados a la necrosis en la zona de injertación de plantas de vid jóvenes con la enfermedad de Petri.

El hongo *Trichoderma*.

3.6 MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

3.6.1 Lugar y periodo de ejecución

Empresa Viveros El Tambo ubicado en Cura Mori-Piura El Tambo y Departamento de sanidad Vegetal – Facultad de Agronomía – Universidad Nacional de Piura. Desde enero 2017 hasta julio 2018.

3.6.2 Toma de muestras

Se tomaron 03 muestras de plantas madre sanas Salt Creek y 03 plantas madre sanas Freedom procedentes de la empresa agrícola Viveros El Tambo-Cura Mori-Piura.

Se tomaron muestras de plantas jóvenes enfermas menores de 01 año, procedentes de diferentes campos vitícolas de Piura y se llevaron al laboratorio de Fitopatología.

3.6.3 Aislamiento e identificación de hongos

Se aislaron hongos de plantas madres de patrones Salt Creek y Freedom de raíces, base de tallo y cargadores. De plantas jóvenes de vid con la enfermedad de Petri de diferentes campos se aislaron hongos asociados de zona de injertación (Fig. 1)

En ambos casos, los segmentos de madera previamente sumergidos en alcohol etílico al 95%, se flamearon a la llama, se les retiró los restos de corteza y se cortaron en segmentos pequeños; finalmente, se sembraron en medio PDA + Cloranfenicol (45 mg/L) contenido en placas de Petri de vidrio (Fig.1a, 1b, 1c, 1d, 1e). Las placas se incubaron en la oscuridad a 28 °C y las observaciones se hicieron a partir del tercer día después de la siembra.

Los hongos aislados en ambos casos se purificaron por repiques sucesivos en medio PDA y se preservaron en tubos con agar inclinado a 5 °C (French and Hebert, 1980).

La identificación microscópica de los diferentes aislados fungosos se hizo de acuerdo a sus estructuras microscópicas (Gonzales, 2005), siguiendo las claves taxonómicas de Mostert *et al* (2006) para identificar Hyphomycetes (géneros similares a *Phaeoacremonium*) y las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), Barrón (1968), Ellis (1971) y Sutton (1980).

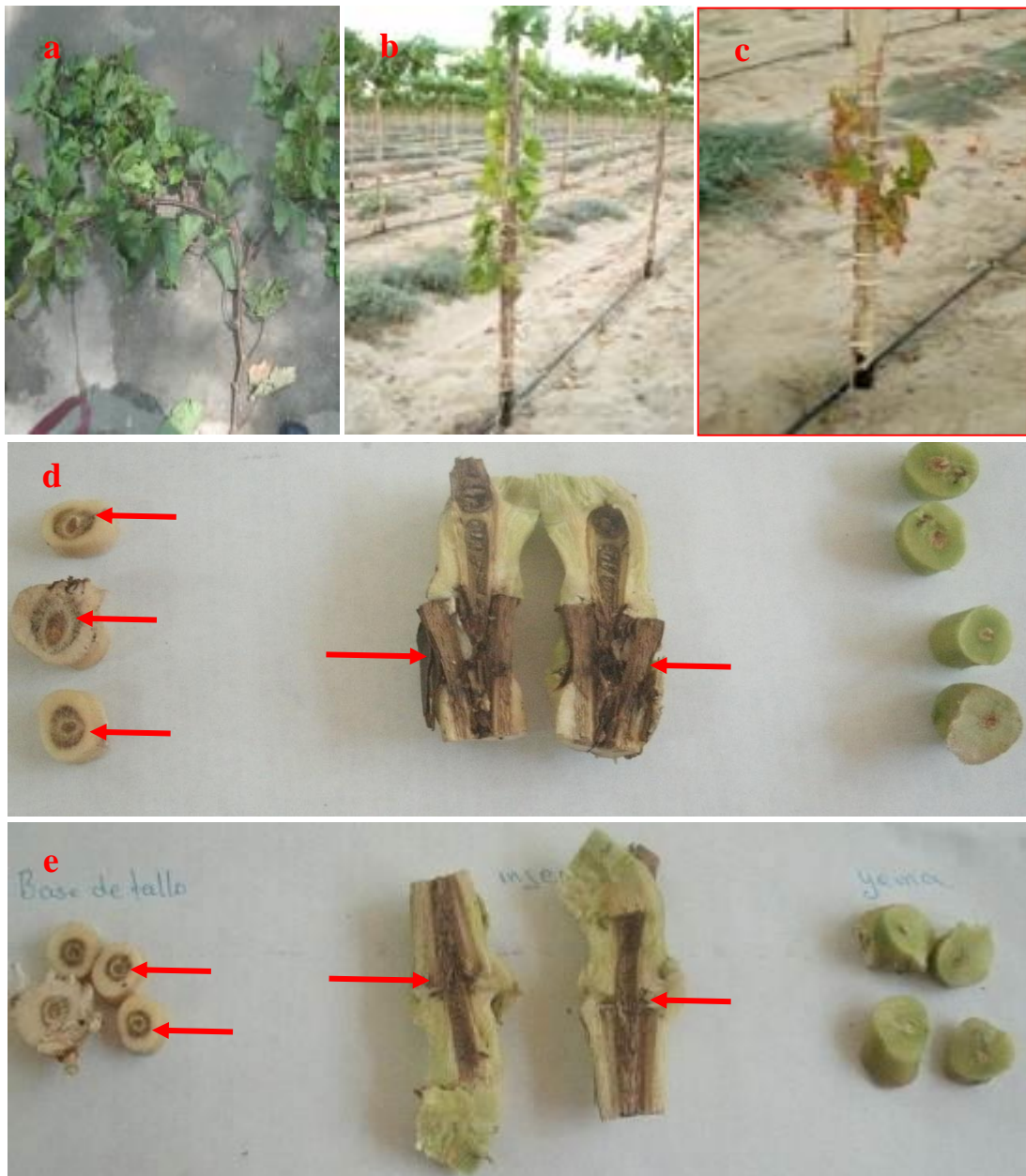


Fig. 1. Aislamiento de hongos de la zona de injertación de plantas enfermas. a, b, c) síntomas en campo son variados como: crecimiento retardado, amarillamiento y muerte, d) al hacer un corte longitudinal se puede observar el síntoma de necrosis que va más allá de la línea de injertación y llega hasta la corteza; muchas veces aparecen también necrosis en los haces vasculares del portainjertos (izquierda) y la variedad aparece sana (derecha), e) síntomas menos intensos de necrosis en la zona de injertación y en haces vasculares del portainjertos (Foto J. Javier-Alva).

3.6.4 Pruebas de patogenicidad de los aislamientos fungosos obtenidos de la zona de injertación de plantas jóvenes enfermas

Tratamiento del material madre

Paquetes de 100-200 sarmientos (0,8-1,20 m de longitud) de un año de edad y con vigor medio, se desinfectaron por aspersión primero con NaHCl al 1% y luego, con la mezcla de Benlate (1%) + Captan (2%) + Decadione (0.1%) + surfactante LI-700 (0,15%) y se sumergieron en pozos de hidratación conteniendo agua por 24 en agua (Fig. 2a).

Almacenamiento en cámara de frío

En bodega de frío a 2-4 °C por un tiempo indeterminado para inhibir la hinchazón, brotación anticipada de las yemas y estimular el proceso de callogénesis, se van retirando de acuerdo a las necesidades (Fig. 2b).

Cámara de calor

A 25-30 °C, durante 13 días para activar el hinchado de las yemas de Salt Creek y 09 días para Freedom; 04 días para las variedades Ivory y Sweet Globe (Fig. 2c). Posteriormente, se desinfectaron nuevamente con los mismos fungicidas.

Proceso de injertación

Se cortaron los sarmientos del patrón para obtener estacas de 25 cm (Fig. 2d); se les practicó desyemado (Fig. 2e) y raspado para inducir el enraizamiento (Fig. 2f). Se seleccionaron y cortaron las varetas porta yemas de las variedades (Fig. 2g). Estando las estacas de los patrones (Fig. 2h) y de las yemas listas (2i), se hizo otra desinfección (Fig. 2j) y se realizó el injerto Omega con máquinas injertadoras (Fig. 2k).

Inoculación de hongos

Separando por presión de los dedos pulgar e índice la variedad del patrón (Fig. 2l) y colocando en la zona de injertación de la variedad un trocito de agar + micelio del correspondiente hongo en estudio (Fig. 2m). Seguidamente se introdujo nuevamente el patrón dentro de la variedad, teniendo cuidado que queden correctamente unidos.

Parafinado

Por inmersión de las estacas hasta la zona de injertación en cera líquida a 85 °C (Fig. 2n) e inmediatamente enfriadas en agua y sumergimiento la mezcla de fungicidas + Ácido Indol Butírico (enraizante) y se colocaron en paquetes (Fig. 2ñ).

Cámara de calor

Las varetas injertadas en bins con sustrato perlita desinfectado (Fig. 2o), se introdujeron en la cámara de calor o forzada a 25-30 °C y 70-80 % de humedad para favorecer el encallamiento en la zona de injertación y la formación de los primordios radiculares, donde permanecieron durante 15-18-25 días hasta que hubo 70-80% de callo, antes de retirarlas y llevarlas al vivero (Fig. 2p).

Aclimatación

Se hizo en un área junto al vivero a temperatura del ambiente para que madure el callo en sombreadero del vivero por 04 días (Fig. 3).

Trasplante a bolsa

Previo poda de raíces y follaje (Fig. 3a), encerado (Fig. 3b), enfriado (Fig. 3c), desinfección (Fig. 3d) y aplicación de enraizante (Fig. 3e). Estando las bolsas de polietileno color negro llenas con la mezcla fibra de coco: turba: perlita 40:40:20 (v/v) + 4 g/bolsa del fertilizante granulado Basacote (N, P, K, Mg y microelementos) (Fig. 3f), se procedió al trasplante manual de una estaca por bolsa (Fig. 3g). En vivero se mantuvieron 70 días con riegos frecuentes por aspersión (3h).

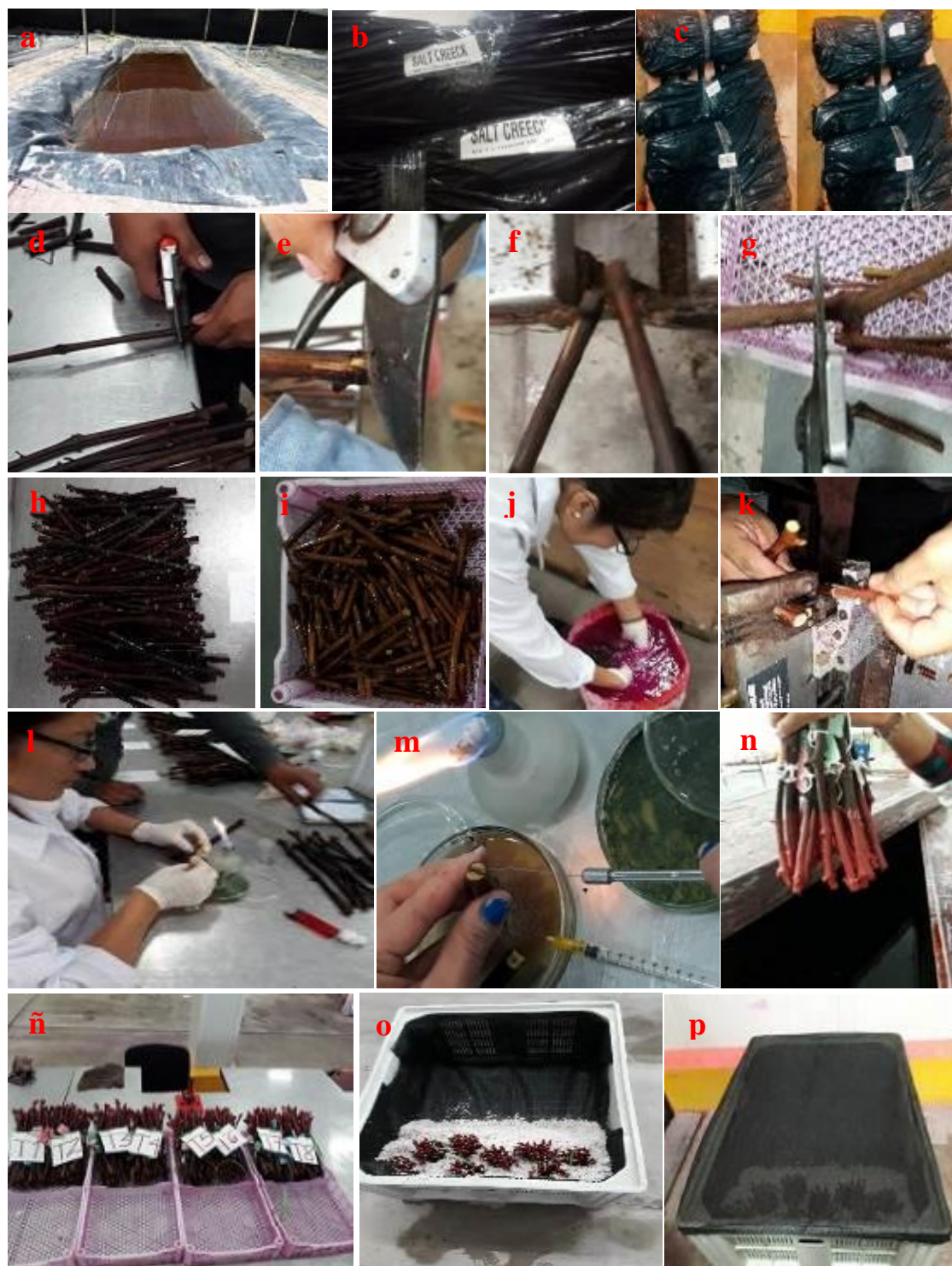


Fig. 2. Proceso seguido en las pruebas de patogenicidad de los aislamientos fúngicos obtenidos de la zona de injertación. a) Poza de hidratación de los sarmientos de plantas madre después de llegar de campo, b) yemas en cámara de frío, c) patrones en cámara de calor, d) corte para obtener estacas del patrón, e) desyemado, f) raspado para inducir enraizamiento, g) corte de yema h) varetas del patrón listas para injertar, i) yemas listas para injertar, j) desinfección, k) injertación, l) separación de la yema injertada, m) inoculación de los hongos, n) encerado del área injertada e inoculada, ñ) varetas injertadas e inoculadas listas para el bin o) varetas dentro del bin, p) bin con varetas en la cámara de calor para encallado en la herida de corte en la base y en la zona de injertación.



Fig. 3. Proceso seguido para el trasplante de las estacas a bolsa en vivero. a) Eliminación de raíces y follaje, b) segundo encerado, c) enfriado d) desinfección, e) aplicación de enraizante, f) bolsas llenas de sustrato listas para el trasplante, g) trasplante de estacas inoculadas con los diferentes aislamientos fúngicos, h) plantas establecidas en vivero donde permanecieron por 70 días.

3.6.5 Evaluaciones de la severidad de los aislamientos fungosos

A los 70 días, se extrajeron las plantas de las bolsas y se llevaron al laboratorio de Fitopatología, donde se hicieron las siguientes determinaciones de los siguientes parámetros:

- a) Aspecto del follaje de la variedad utilizando una escala “ad hoc” de seis grados: 0 = sano y vigoroso, sin síntomas, 1 = 1-25% menos follaje, 2 = 26-50% menos follaje, 3 = 51-75%, menos follaje y 4 = 76-100% menos follaje, 5 = planta muerta (Fig. 4a).
- b) Altura del follaje (cm) medida con una cinta métrica (Fig. 4b).
- c) Peso fresco del follaje (g) en una balanza analítica (Fig. 4c)
- d) Diámetro de la variedad (cm) medido con un vernier (Fig. 4d).
- e) Severidad de la necrosis en la zona de injertación. – Se hizo un corte longitudinal y evaluando el avance de la necrosis con una escala “ad hoc” de 06 grados: 0=sana, 1=necrosis solo en línea de injertación 2=hasta 25%, 3= hasta 50%, 4=hasta el 75%, 5=>75% (Fig. 4e, 4f, 4g, 4h, 4i, 4j)
- f) Peso del tallo del patrón (g) utilizando una balanza analítica (Fig. 4k).
- g) Aspecto de las raíces del patrón. – Se utilizó la escala modificada de 0 a 5 grados propuesta por Alaniz *et. al* (2007) para evaluar severidad por *Cylindrocarpon* en raíces: 0 = raíz sana y sin reducción en crecimiento, 1 = 0-25% de reducción en la masa radicular, 2 = 26-50% de reducción en la masa radicular, 3 = 51-75% de reducción en la masa radicular, 4 = más del 75% de reducción en la masa radicular, 5 = planta muerta (Fig. 4l).
- h) Longitud de raíces (cm) del patrón utilizando una cinta métrica (Fig. 4m).
- i) Peso fresco de raíces (g) utilizando una balanza digital (Fig. 4n).

3.6.6 Evaluaciones de severidad en las combinaciones patrón / variedad

Se evaluaron los mismos parámetros en las combinaciones Freedom/Salt Creek, Freedom/Ivory, Salt Creek/Sweet Globe y Salt Creek/Ivory

3.6.7 Reaislamiento de hongos

A 70 días después del trasplante, Se sembraron segmentos de tejido de la zona de injertación en medio PDA e identificando los hongos aislados. Los resultados se expresan en frecuencia (%) de crecimiento.

Análisis de Datos

Diseño factorial con 15 tratamientos, cuatro combinaciones (patrón/variedad) y cinco repeticiones por combinación (plantas) (Tabla 1).

El Análisis de Variancia (ANVA) para la contrastación de la hipótesis y la prueba comparativa de medias de Duncan para determinar diferencias entre pares ($\alpha=0.05$) utilizando el software estadístico SPSS versión 20.

Selección del aislamiento fungoso virulento en la zona de injertación

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis estadístico.

3.6.8 Eficacia del antagonista biológico *Trichoderma* frente al aislamiento fungoso virulento

Inoculación

Se siguió el mismo procedimiento que en el paso anterior; pero en este caso, estando ambos en medio PDA, se co inoculó el aislamiento fungoso virulento *T. harzianum* (AGROBIÓTICOS S.A.C) en la zona de injertación.

Aplicación del fungicida extracto vegetal biológico Licthor SC (TQC SAC)

Aplicando a las plantas tres riegos en drench semanales de 200 cm³ cada uno a una concentración de 5000 ppm. Las plantas se mantuvieron en vivero durante 60 días (Fig. 5), al término de los cuales se extrajeron y llevaron al laboratorio para sus respectivas evaluaciones.

3.6.9 Evaluaciones de la eficacia de los tratamientos

A 60 días, haciendo las mismas determinaciones; pero además, se obtuvo el peso seco del follaje, tallo del patrón y de masa radicular.

3.6.10 Evaluaciones de la eficacia de los tratamientos en las combinaciones patrón/variedad

A 60 días después del trasplante.

3.6.11 Reaislamiento

60 días después del trasplante, siguiendo los mismos lineamientos anteriores.

Análisis de datos

Diseño Factorial con 08 tratamientos, cuatro combinaciones patrón/variedad y diez repeticiones por combinación (plantas) (Tabla 2) que permanecieron 60 días en vivero.

El Análisis de Variancia y la prueba de comparativa de medias de Duncan para determinar diferencias entre pares ($\alpha=0.05$) utilizando el software estadístico SPSS versión 20.



Fig. 04. Evaluación de la severidad de los aislamientos fungosos. a) Aspecto del follaje evaluado en una escala de 06 grados de severidad, b) evaluación de la altura final de la variedad en cm, c) evaluación del peso fresco de la variedad en gramos utilizando una balanza digital, d) evaluación del diámetro de la variedad en cm, e, f, g, h i, j) evaluación de la necrosis en y más allá de la línea de injertación patrón/variedad con una escala de 06 grados de severidad, k) evaluación del peso fresco del tallo del patrón en gramos, l) evaluación del aspecto de las raíces utilizando una escala de 06 grados de severidad, m) evaluación de la longitud de las raíces del patrón en cm, n) registro del peso fresco de raíces en gramos utilizando una balanza digital, ñ) estufa para la obtención del peso seco de follaje, tallo y raíces en papel kraft a temperatura constante de 70 °C x 12 h.

Tabla 1. Tratamientos para evaluar la eficacia de *T. harzianum* frente a un aislamiento fungoso virulento. Piura-Perú, 2018

Tratamiento	Combinaciones patrón/variedad			
Hongo ¹	F/SG ²	F/I ³	SC/SG ⁴	SC/I ⁵
Hongo + Licthor ⁶ 5000 ppm	F/SG	F/I	SC/SG	SC/I
<i>T. harzianum</i>	F/SG	F/I	SC/SG	SC/I
<i>Trichoderma</i> + Licthor 5000 ppm	F/SG	F/I	SC/SG	SC/I
Hongo + <i>T. harzianum</i>	F/SG	F/I	SC/SG	SC/I
Hongo + <i>T. harzianum</i> + Licthor 5000 ppm	F/SG	F/I	SC/SG	SC/I
Licthor 5000 ppm	F/SG	F/I	SC/SG	SC/I
Testigo	F/SG	F/I	SC/SG	SC/I

¹Aislamiento fungoso que resultó virulento en las pruebas de patogenicidad

²Freedom/Sweet Globe ³Freedom/Ivory ⁴Salt Creek/Sweet Globe ⁵Salt Creek/Ivory

⁶Fungicida biológico que contiene Sucratos y aminoácidos activos



Fig. 5. Plantas de vid inoculadas con *T. harzianum* en vivero. En primera y segunda fila 20 días después del trasplante, en tercera y cuarta fila 60 días después del trasplante: a) T1. Aislamiento fungos virulento, b) T2: Aislamiento fungos virulento + Licthor 5000 ppm, c) T3: *T. harzianum*, d) T4: *T. harzianum* + Licthor 5000 ppm, e) T5: Aislamiento fungos virulento + *T. harzianum*, f) T6: Aislamiento fungos virulento + *T. harzianum* + Licthor SC 5000 ppm, g) T7: Licthor 5000 ppm, h) T8: Testigo absoluto.

CAPÍTULO IV

RESUTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

4.1.1 Hongos identificados

Hongos endófitos de patrones sanos

El hongo *Trimmatostroma* sp. (Fungi: Ascomicota: Pezizomycotina: Letiomycetes: Letiomycetidae: Helotiales) se aisló en bajas frecuencias de raíz y cargador de Salt Creek y de base de tallo de Freedom. Sus colonias son marrón oscuro; conidióforos cortos y reducidos a células conidiógenas integradas, terminales, rugosas-cilíndricas. Conidias en cadenas ramificadas basipetales, simples o ramificadas, rectas o flexuosas, variables en forma, cilíndricas redondeadas hacia el ápice, clavadas, piriformes; color marrón oscuro, con septas longitudinales, transversales u oblicuas. Se reporta que es común en ramas y ramillas del *Salix* en Europa (Ellis, 1971) (Tabla 02).

Cylindrocarpon sp. (Fungi: Ascomicota: Sordariomycetes: Hypocreomycetidae: Hipocreales: Nectriaceae) (Webster and Weber, 2007) se aisló con regular frecuencia de raíces de Salt Creek y de base de tallo de Freedom. Se identificó por sus colonias de crecimiento rápido y coloreadas (Fig. 6d), conidióforos en fiálides verticiladas; fiálides cilíndricas o subuladas, con pequeños collarettes produciendo conidias con pared lisa, hialinas y arregladas en masas viscosas; macroconidias con una o varias septas, hialinas rectas o curvadas, cilíndricas o fusiformes; microconidias unicelulares (Fig. 6e); clamidosporas presentes, simples, en pares en grupos (Tabla 2, Fig. 6f) (Barnett y Hunter, 1980, Barron, 1968).

Phaeoacremonium spp. anamorfo de *Togninia* (Fungi: Ascomicota: Pirenomyces: Diaporthales: Diaportaceae: Togninia) (Crous *et al.*, 1996; Mostert *et al.*, 2006) se aisló de base de tallo y cargador de ambos patrones. Se identificó porque sus colonias en medio PDA tienen un color que va desde blanco, blanco cremoso, blanco amarillento a naranja - beige en el anverso y, melón a beige-amarillo pálido en el reverso; son de topografía verrucosa, margen entero y textura mayormente algodonosa-granular (Fig. 6a, 6b); hifas septadas, marrón oscuro, verrucosas, dispuestas

en paquetes, con prominentes exudados que se observan como verrugas de hasta 3 µm de ancho; conidióforos en su mayoría largos y ramificados, los no ramificados son ligeramente hinchados en la base, con un color medio marrón y más pálidos hacia el ápice; fiálides terminales o laterales, sobre todo monofialídicas, con frecuencia se muestra el rejuvenecimiento percurrente, fiálides predominantes de tipo III de forma subulada, navicular, escasas tipo I; conidias hialinas, bigutuladas, oblongo-elipsoidales a obovoides, a veces alantoides (Tabla 2, Fig. 6c).

Pestalotia sp. (Fungi: Ascomicota: Sordariomycetes: Xylariomycetidae: Xilariales: Amphisphaeriaceae) (Webster and Weber, 2007) se aisló de la base del tallo Salt Creek se identificó como *Pestalotia* sp. Se identificó porque su colonia en medio PDA es de color blanco cremosos y de aspecto algodonoso, en forma de roseta, crecimiento radial superficial y abundante. Forma acérvulos negros subepidérmicos; conidióforos cortos y simples; conidias alargadas y multiseptadas con 3-5 células, las del extremo son hialinas y las centrales marrón oscuro, con dos apéndices en uno de sus extremos. Es un parásito débil que infecta heridas bajo condiciones húmedas (Barnett y Hunter, 1998; Ellis, 1971) (Tabla 02).

Gliomastix sp. (Fungi: Ascomicota: Sordariomycetes: Hipocreales: Bionectriaceae) (Ellis, 1971) se aisló de base tallo de Freedom. Se identificó en medio PDA por sus colonias blanco al inicio y luego se tornan oscuras. Micelio superficial compuesto de hifas septadas, hialinas, ramificadas, de paredes lisas. Células conidiógenas fialídicas integradas y terminales, determinadas, subuladas con collarete; conidia en cadenas, semiendógenas, simples, elipsoidales, pigmentadas, lisas y aseptadas. Común en suelos, aire y en tallos de herbáceas (Tabla 02).

Alternaria sp. (Fungi: Ascomicota: Dothideomycetes: Pleosporales: Pleosporaceae) (Webster and Weber, 2007) se aisló del cargador de Salt Creek. Se identificó en PDA por su colonia plana y algodonosas, blanco grisáceo al inicio y luego de color café o verde oliva oscuro en el anverso y café oscuro a negro al reverso. Hifas oscuras septadas; conidióforos septados con pared lisa o rugosa, simples o simpodiales con varios poros de inserción; conidias solitarias o en cadenas acropétalas con forma ovoide u obclavada, septadas longitudinalmente y transversalmente. El final del conidio, cerca del conidióforo es redondo, mientras que se estrecha hacia el ápice (Ellis, 1971) (Tabla 02, Fig. 6g).

Aspergillus nidulans-*Emericella nidulans* (Fungi: Ascomycota: Plectomycetes: Eurotiales: Trichocomaceae) (Webster and Weber, 2007) se aisló de raíz y cargador de Freedom en frecuencia baja a regular. Se identificaron como cuyas colonias son verde oscuro. La fase sexual se caracteriza por la presencia de cleistotecios y de las células Hule de pared gruesa rodeándolos. En su fase asexual, el ápice del conidióforo es hinchado formando la vesícula, dentro de la cual se forman las Fiálides que se extienden sobre su superficie. Las conidias se forman en sucesión basipetal en cadenas. Ambas fases se encuentran coexistiendo en la colonia aislada (Tabla 2).

Cephalosporium sp. (=Acremonium) (Fungi: Ascomycota: Ascomycetes: Hipocreales: Hipocreaceae) se aisló en baja frecuencia de cargador Freedom. Se identificó en medio PDA por sus colonias de crecimiento lento. Conidióforos simples, que surgen directamente de la hifa vegetativa, sin fiálides y aseptados; conidias en el extremo, pequeñas, ovoides, unicelulares y hialinas, formando bolas en el ápice. Frecuentemente asociado con rastros de plantas y suelo (Barrón, 1968) (Tabla 2).

Fusarium sp. (Fungi: Ascomycota: Sordariomycetes: Hipocreales: Nectriaceae) se aisló en baja frecuencia de cargador Salt Creek. Se identificó sus colonias crema y rojo púrpura, micelio abundante de crecimiento rápido (Fig. 6h), macroconidias a partir de fiálides con presencia de la célula pie basal (Tabla 2, Fig. 6i) (Barrón, 1968).

Tabla 2. Hongos de plantas madre aislados e identificados. Frecuencia de aparición (%) en patrón Salt Creek y patrón Freedom. Viveros El Tambo-Piura, agosto 2018

Patrón	Planta	Raíz		Base de tallo		Cargador	
		Hongo	%	Hongo	%	Hongo	%
Salt Creek	1	<i>Trimm</i> sp. ¹	10	<i>Pm.</i> sp. ² <i>Pestalotia</i> sp.	37 5	<i>Pm.</i> sp. <i>Trimm</i> sp. <i>Fusarium</i> sp.	5 5 5
	2	Negativo		Negativo		Negativo	
	3	<i>Cyl</i> sp.	20	<i>Pm.</i> sp.	5	<i>Alternaria</i> sp.	5
Freedom	1	Negativo		<i>Cyl</i> sp. <i>Gliomastix</i> sp.	15 15	<i>Asp</i> + <i>Em</i>	10
	2	Negativo		<i>Pm.</i> sp. <i>Trimm</i> sp.	30 5	<i>Pm.</i> sp.	5
	3	<i>Asp</i> + <i>Em</i>	15	<i>Trimm</i> sp.	5	<i>Ceph</i> sp.	5

¹*Trimmatostroma* sp. ²*Phaeoacremonium* sp. ³*Cylindrocarpon* sp. ⁴*Aspergillus* + *Emericella*
⁵*Cephalosporium* sp.

Hongos de la zona de injertación de plantas jóvenes enfermas

Los hongos aislados e identificados y, su lugar de procedencia se indican en la tabla 3. Se obtuvieron con regular frecuencia 03 aislamientos de *Phaeoacremonium* sp., 02 de Castilla y 01 de Cura Mori (Fig. 6a, 6b, 6c).

Fusarium sp. se aisló con baja a regular frecuencia de cuatro zonas, 01 aislamiento de Chepen – La Libertad, 01 de Tambogrande, 01 de Castilla y 02 de Cura Mori-Piura (Fig. 6h, 6i).

Cylindrocarpon sp. creció con frecuencias media – alta y muy alta, todos de muestras de plantas con la enfermedad de Petri y procedentes de Castilla (Fig. 6d, 6e, 6f).

Lasiodiplotia (Hongos: Ascomicota: Dothideomicetes: Botryosphaeriales: Botryosphaeriaceae: Botryosphaeria) se aisló en baja frecuencia de la zona de injertación de plantas enfermas procedentes de Cura Mori. Su principal característica es la presencia de picnidios, paráfisis y estriaciones longitudinales en conidios maduros. Se trata de *L. brasiliense* (comunicación persona de Arturo Morales-Universidad Politécnica de Valencia) (Fungi: Ascomicota: Dothideomicetes: Botryosphaeriales: Botryosphaeriaceae). Su colonia es inicialmente blanca y luego se torna gris-olivo y luego color negro, de crecimiento rápido, micelio aéreo y denso (Fig. 6j), produce picniosporas hialinas aseptadas cuando jóvenes (Fig. 6k) en picnidios oscuros (Fig. l) y con estriaciones longitudinales a la madurez (Fig. m) (Sutton, 1980).

Graphium sp. (Fungi: Ascomicota: Sordariomycetes: Microascales: Microascaceae) se aisló en baja frecuencia de plantas enfermas de Cura Mori-Piura. Se identificó por sus synema oscuro y masas de amerosporas en mucus. Los conidióforos compactos se fusionan juntos para formar el synema, conidias y estructuras a manera de rizoides. Su hábito es el suelo, rastros de plantas, estiércol y agua contaminada (Barron, 1968; Ellis, 1971).

Tabla 3. Hongos aislados e identificados en la zona de injertación de plantas de vid. Piura-Perú, 2018

Aislamiento fungoso	Frec. Crec (%)	Patrón/ variedad	Empresa	Ubicación
<i>Phaeoacremonium</i> sp. 01	30	SC/C ¹	Ecosac	Castilla
<i>Phaeoacremonium</i> sp. 02	30	SC/C	Ecosac	Castilla
<i>Fusarium</i> sp.01	10	F/SR ²	Hoja Redonda	Chepen-La Libertad
<i>Fusarium</i> sp. 02	10	MGT/RG ³	El Montículo	Tambogrande
<i>Phaeoacremonium</i> 03	30	SC/C	Ag. Fegurri	Cura Mori-Piura
<i>Fusarium</i> sp. 03	10	F/RG ⁴	Rapel	El Papayo-Castilla
<i>Cylindrocarpon</i> sp. 01	40	F/RG	Rapel	El Papayo-Castilla
<i>Cylindrocarpon</i> sp. 02	40	F/RG	Rapel	El Papayo-Castilla
<i>Cylindrocarpon</i> sp. 03	10	SC/S ⁵	Rapel	El Papayo-Castilla
<i>Cylindrocarpon</i> sp. 04	100	SC/S	Rapel	El Papayo-Castilla
<i>Fusarium</i> sp. 04	15	SC/S	Sta. Regina	Cura Mori-Piura
<i>Fusarium</i> sp. 05	15	SC/S	Sta. Regina	Cura Mori-Piura
<i>Lasioidiplodia brasiliense</i>	10	MGT/C ⁶	Sta. Regina	Cura Mori-Piura
<i>Graphium</i> sp.	10	MGT/C	Sta. Regina	Cura Mori-Piura

¹Salt Creek/Crimson ²Freedom/Sunridge ³mgt101-14/Red Globe ⁴Freedom/Red Globe

⁵Salt Creek/Superior ⁶mgt 101-14/Crimson

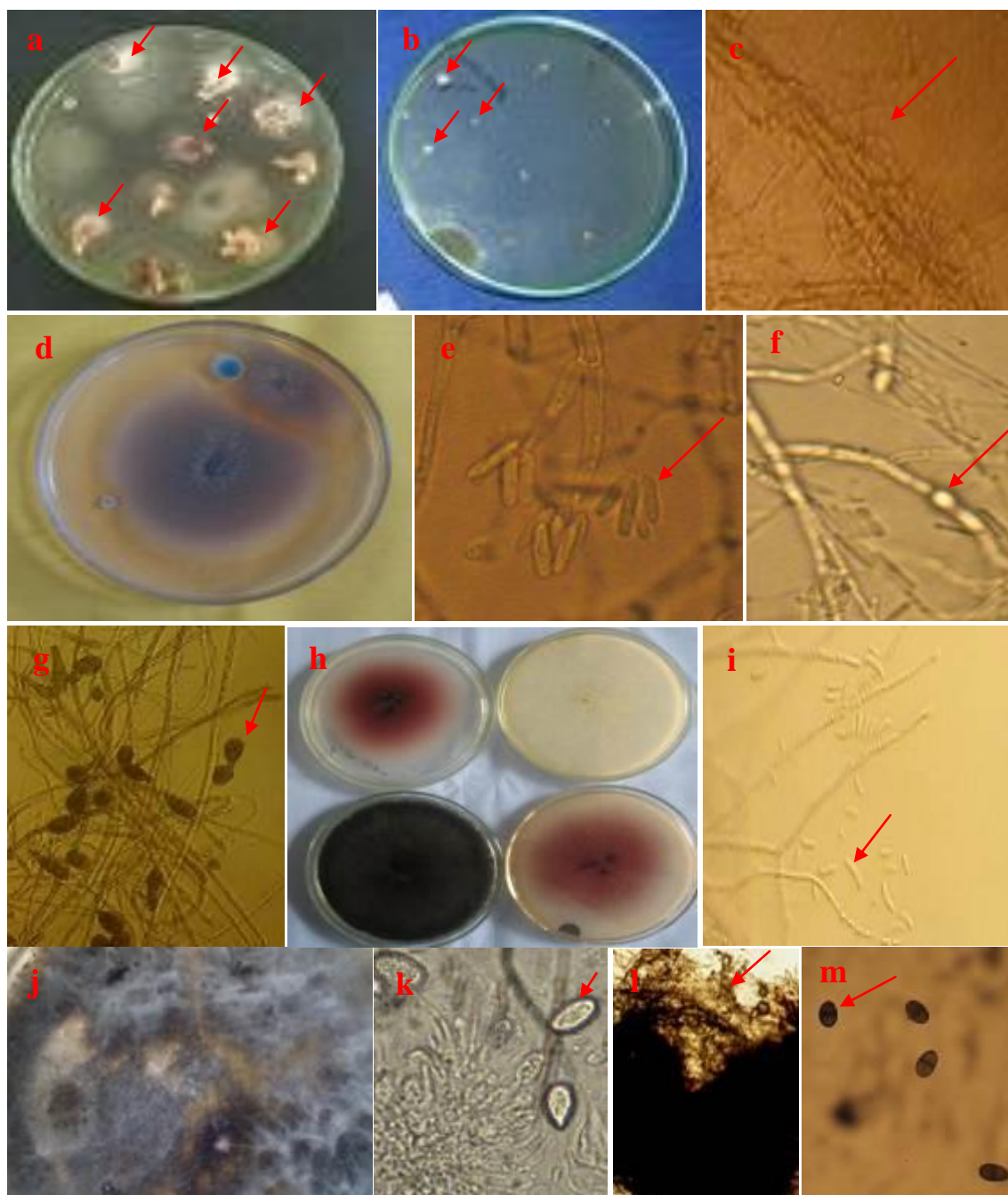


Fig. 6. Hongos aislados. a, b) Colonias pequeñas de *Phaeoacremonium* sp. en medio PDA, c) hifas característicamente en paquetes con conidióforos rectos y conidias hialinas unicelulares de *Phaeoacremonium* sp., d) colonia de *Cylindrocarpon* sp. en medio PDA, e) macroconidias de *Cylindrocarpon* sp. con varias septas, rectas y sin célula pie, f) Clamidosporas de *Cylindrocarpon* sp. intercalares y en pares, g) Conidias de *Alternaria* sp., h) colonias de *Fusarium* sp. en medio PDA, i) macroconidias de *Fusarium* sp. con célula pie y en forma de canoa, j) colonia de *Lasiodiplodia*, k) conidias jóvenes unicelulares, hialinas aceptadas, l) Conidias jóvenes en picnidios, m) picniosporas maduras oscurecidas, septadas y radiadas.

4.1.2 Patogenicidad de los aislamientos fungosos

En el aspecto del follaje de las variedades

Según el ANVA de la Tabla 10 del Anexo, hubo diferencias significativas entre los aislamientos fungosos. El mayor grado de severidad del follaje se presentó en *Cylindrocarpon* (tabla 4), observado en los Gráficos 2 de severidad y 3 de severidad media, ambos del Anexo. Fue significativamente mayor en Salt Creek/Ivory y Salt Creek/Sweet Globe (Tabla 5).

En la altura del follaje de las variedades

El ANVA de la Tabla 11 del Anexo indica que se presentaron diferencias significativas entre los aislamientos fungosos inoculados. Altura significativamente menor se observó en *Cylindrocarpon* 04 (Tabla 4), indicada en los Gráfico 4 de altura y 5 de altura media,, ambos del Anexo. En las combinaciones patrón/variedad, todos los aislamientos fungosos se comportaron estadísticamente iguales (Tabla 5).

En el peso fresco del follaje de las variedades

El ANVA de la tabla 12 del Anexo expresa diferencias significativas entre los aislamientos fungosos inoculados. *Cylindrocarpon* 04 influyó significativamente en un menor peso fresco del follaje (Tabla 4), indicado en los Gráficos 6 del peso fresco y 7 del peso fresco medio. En las combinaciones patrón/variedad, todos los aislamientos fungosos se comportaron estadísticamente iguales (Tabla 5).

En el diámetro de las variedades

El ANVA de la Tabla 13 del Anexo indica diferencias significativas entre los tratamientos. *Cylindrocarpon* 04 influyó significativamente en un menor diámetro (Tabla 4), como se observa en los Gráficos 8 del diámetro y 9 de diámetro medio, ambos del Anexo. En las combinaciones patrón/variedad, todos los aislamientos fungosos se comportaron estadísticamente iguales (Tabla 5) .

En la severidad de la necrosis en la zona de injertación

De acuerdo a ANVA de la Tabla 14 del Anexo, hubo diferencias estadísticas entre los aislamientos en el grado de avance de la severidad de la necrosis. El mayor grado de severidad se presentó en *Phaeoacremonium* 01, que se comportó igual a *Phaeoacremonium* 02 y *Cylindrocarpon* 04 (Tabla 4), indicado en los Gráficos 10 de la

severidad y 11 de la severidad media, ambos del Anexo. La severidad fue significativamente mayor en la combinación Freedom/Sweet Globe (Tabla 5).

En el peso fresco del tallo de los patrones

La Tabla 15 del Anexo, indica diferencias entre tratamientos. Significativo menor peso fresco del tallo lo presentaron las plantas inoculadas con *Fusarium* 01, 02, 03, 04 y 05, *Cylindrocarpon* 04, *L. brasiliense* y el testigo (Tabla 4), indicado en los Gráficos 12 de peso fresco y 13 del peso fresco medio, ambos del Anexo. Los aislamientos se comportaron iguales en el peso fresco de las combinaciones patrón/variedad (Tabla 5).

En el aspecto de las raíces de los patrones

Según la Tabla 16 del Anexo, se presentaron diferencias significativas entre los aislamientos fungosos. El peor aspecto de raíces expresado en mayor grado de severidad lo presentó *Cylindrocarpon* 04 (Tabla 4). Le siguió *L. brasiliense*, *Cylindrocarpon* 02, 03 y 04, *Fusarium* 01,02, 03, 04 y 05, el testigo y *Phaeoacremonium* 01 (Tabla 4), observado en los Gráficos 14 de severidad y 15 de severidad media, ambos del Anexo. La severidad fue significativamente mayor en Salt Creek/Ivory y en Salt Creek/Sweet Globe (Tabla 5).

En la longitud de raíces de los patrones

La Tabla 17 del Anexo indica que hubo diferencias significativas entre los aislamientos fungosos. Fue significativamente menor en *Cylindrocarpon* 04 (Tabla 4), observado en los Gráficos 16 de la longitud y 17 de la longitud media, ambos del Anexo. Fue significativamente menor en Salt Creek/Ivory y en Salt Creek/Sweet Globe (Tabla 5).

En el peso fresco de raíces de los patrones

Según el ANVA de la Tabla 18 del Anexo hubo diferencias significativas entre los hongos. *Cylindrocarpon* 04 influyó en un peso fresco de raíces significativamente menor (Tabla 4), indicado en los Gráficos 18 del peso fresco 18 y 19 del peso fresco medio, ambos del Anexo. Fue significativamente menor en Salt Creek/Sweet Globe.

De acuerdo a estos resultados se seleccionó el aislamiento *Cylindrocarpon* sp. 04 para el ensayo de eficacia de *T. harzianum* por sus mayores grados de patogenicidad en follaje y raíces de las plantas inoculadas.

Tabla 4. Prueba comparativa de medias de Duncan efecto de los hongos sobre los parámetros en estudio 70 días después del trasplante. Piura-Perú, 2018.

Hongo	Aspecto del follaje (Grados)	Altura del follaje (cm)	Peso fresco del follaje (g)	Diámetro variedad (cm)	Severidad zona de injert.	Peso fresco tallo (g)	Aspecto de las raíces (Grados)	Longitud de raíces (cm)	Peso fresco de raíces (g)
<i>Pm.</i> 01 ¹	2,15 ab	46,15 efgh	24,53 ef	3,75 bc	4,30 e	13,19 d	2,30 bcde	19,15 ef	3,49 e
<i>Pm.</i> 02 ²	2,10 ab	50,95 gh	28,94 f	4,00 e	4,10 de	14,26 d	1,85 abcd	19,20 ef	3,60 e
<i>Pm.</i> 03 ³	2,15 ab	46,70 fgh	22,71 e	3,85 bc	3,05 ab	12,84 cd	1,80 abc	18,95 ef	3,26 de
<i>Grap.</i> ⁰⁴	2,00 a	53,80 h	21,73 e	4,05 e	3,10 abc	10,45 b	1,35 ab	19,60 f	3,85 e
<i>Cyl.</i> 01 ⁵	2,25 ab	41,60 defgh	13,01 cd	3,45 bc	2,95 ab	8,08 a	1,50 ab	19,20 ef	3,51 e
<i>Cyl.</i> 02 ⁶	3,10 c	32,10 bcdef	15,30 d	3,85 bc	2,60 ab	11,31 bc	2,80 de	12,90 bcd	2,39 bc
<i>Cyl.</i> 03 ⁷	3,20 c	27,45 bcd	6,04 ab	3,60 bc	2,15 a	7,58 a	2,40 bcde	15,65 def	1,39 bc
<i>Fus.</i> 01 ⁸	2,85 bc	31,65 bcde	9,92 bcd	3,70 bc	2,50 ab	7,47 a	2,65 cde	10,80 bcd	1,62 bc
<i>Fus.</i> 02 ⁹	2,80 bc	26,30 bc	7,91 bc	3,70 bc	2,50 ab	7,34 a	2,65 cde	9,15 bc	1,60 bc
<i>Fus.</i> 03 ¹⁰	2,80 bc	21,30 b	6,05 ab	3,80 bc	2,05 a	7,01 a	2,65 cde	10,30 bcd	1,43 bc
<i>L. bra.</i> ¹¹	2,35 ab	18,30 b	6,38 abc	3,75 bc	3,30 bcd	7,25 a	2,95 e	7,95 b	1,05 b
<i>Fus.</i> 04 ¹²	1,90 a	27,40 bcd	8,54 bc	4,00 e	2,80 ab	7,30 a	2,60 cde	13,90 cde	1,41 bc
<i>Fus.</i> 05 ¹³	1,85 a	39,85 cdefgh	11,13 bcd	3,90 bc	2,45 ab	7,88 a	2,35 bcde	15,05 def	2,18 bc
<i>Cyl.</i> 04 ¹⁴	5,00 d	0,00 a	0,00 a	0,00 a	4,05 cde	7,13 a	5,00 f	0,00 a	0,00 a
Testigo	1,95 a	37,15 cdefg	13,07 cd	4,00 e	2,35 ab	7,88 a	2,45 cde	14,40 cdef	1,63 bc

¹*Phaeoacremonium* sp. 01 ²*Phaeoacremonium* sp. 02, ³*Phaeoacremonium* sp. ⁴ *Graphium* sp. ⁵*Cylindrocarpon* sp. 01 ⁶ *Cylindrocarpon* sp. 02 ⁷*Cylindrocarpon* sp. 03 ⁸*Fusarium* sp. 01 ⁹*Fusarium* sp. 02 ¹⁰*Fusarium* sp. 03 ¹¹*L. brasiliense* ¹²*Fusarium* sp. 04 ¹³ *Fusarium* sp. 05 ¹⁴ *Cylindrocarpon* sp. 09

Tabla 5. Prueba comparativa de medias de Duncan efecto de los hongos en las combinaciones variedad/patrón. Piura-Perú, 2018.

Combinación	Aspecto del follaje (Grados)	Altura del follaje variedad (cm)	Peso fresco del follaje variedad(g)	Diámetro de variedad (cm)	Severidad en zona de injertación (Grados)	Peso fresco del tallo patrón (g)	Aspecto de las raíces (Grados)	Longitud de raíces (cm)	Peso fresco de raíces
F / SG ¹	3,41 a	19,03 a	2,50 a	2,54 a	3,03 b	8,24 a	2,01 ab	17,31 b	0,79 b
F / I ²	3,73 ab	19,84 a	2,16 a	3,14 a	2,23 a	8,61 a	1,89 a	15,85 b	0,80 b
SC / SG ³	3,90 b	15,54 a	1,66 a	2,69 a	1,90 a	8,09 a	2,79 c	10,65 a	0,41 a
SC / I ²	3,85 b	15,19 a	1,77 a	3,31 a	2,05 a	8,17 a	2,55 bc	11,46 a	0,62 ab

¹ Freedom/Sweet Globe ² Freedom/Ivory ³ Salt Creek/Sweet Globe ⁴ Freedom/Ivory

Reaislamiento de los hongos inoculados

De acuerdo a la Tabla 6, al final, además de reaislar los hongos que se inocularon; también, se aislaron otros hongos que no habían sido inoculados (Fig. 7, Gráfico 1).

De las plantas inoculadas con *Phaeoacremonium* 01, se aisló con alta frecuencia *Cylindrocarpon* sp. (Fig. 7a, Gráfico 1a).

Phaeoacremonium 02 apareció con regular frecuencia, no en todas las plantas que se inoculó, se aislaron además *Cylindrocarpon* y *Botryosphaeria* (Fig. 7b, Gráfico 1b).

De plantas inoculadas con *Phaeoacremonium* 3, se aislaron también *Cylindrocarpon*, *Botryosphaeria* y *Alternaria* (Fig. 7c, Gráfico 1c).

De plantas inoculadas con *Graphium* también se aislaron *Cylindrocarpon*, *Botryosphaeria* y *Rhizoctonia* (Fig. 7d, Gráfico 1d).

De plantas inoculadas con *Cylindrocarpon* 1 y *Cylindrocarpon* 2 también se aisló *Botryosphaeria* (Fig. 7 e, 7f, Gráficos 1e, 1f).

De plantas inoculadas con *Cylindrocarpon* 3 solo se aisló *Cylindrocarpon* (Fig. 7g, Gráfico 1g).

De plantas inoculadas con *Fusarium* 1, *Fusarium* 2 y *Fusarium* 3, también se aisló *Botryosphaeria* (Fig. 7h, 7i, 7j, Gráficos 1h, 1i, 1j).

De plantas inoculadas con *L. brasiliense* también se aisló *Fusarium* (Fig. 7k, Gráfico 1k).

De plantas inoculadas con *Fusarium* 04 también se aisló *Botryosphaeria* y *Alternaria* (Fig. 7l, Gráfico 1l).

De plantas inoculadas con *Fusarium* 05 también se aisló *Botryosphaeria* (Fig. 7m, Gráfico 1m).

De plantas inoculadas con *Cylindrocarpon* 04 también se aislaron en muy baja frecuencia *Botryosphaeria* y *Alternaria* (Fig. 7n, Gráfico 1n).

De plantas testigo se aislaron los hongos *Cylindrocarpon*, *Botryosphaeria*, *Alternaria* y cinco hongos que se registraron como no conocidos por la dificultad para producir estructuras reproductivas en medio PDA (Fig. 7ñ, Gráfico 1ñ).

Tabla 6. Hongos reaislados de la zona de injertación 70 días después de la inoculación. Viveros El Tambo. Piura-Perú, 2018

Hongo	Planta	Frecuencia (%) de hongos aislados en las cuatro combinaciones							
		F/SG	%	F/I		SC/SG	%	SC/I	%
Pm. sp. 1	1	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Pm</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	2	<i>Pm</i> sp.	20	Neg	100	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	20
	3	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	80	<i>Pm</i> sp.	30	NC 02	100
	4	<i>Cylind</i> sp.	40	NC01	100	<i>Pm</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	100
	5	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Paecylomyces</i>	60
Pm. sp. 2	1	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	2	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Pm</i> sp.	20
		<i>Pm</i> sp.	60						
	3	<i>Pm</i> sp.	60	<i>Pm</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	40
		<i>Botryosph</i>	10			<i>Botryosph</i>	40		
Pm. sp. 3	4	<i>Botryosph</i>	40	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Tricho</i>	40	<i>Cylind</i> sp.	100
	5	<i>Cylind</i> sp.	60	NC 03	100	<i>Botryosph</i>	20	<i>Pm</i> sp.	10
Pm. sp. 3	1	NC 01	20	<i>Penicillium</i>	20	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100
	2	NC 01	20	<i>Penicillium</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	100
	2	<i>Alternaria</i>	20			<i>Botryosph</i>	20		
		<i>Pm</i> sp.	20						
	3	NC 01	20	NC 01	100	<i>Pm</i> sp.	20	<i>Botryosph</i>	100
Pm. sp. 3		<i>Cylind</i> sp.	20						
	4	<i>Alternaria</i>	20	NC 01	40	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100
		<i>Penicillium</i>	10	<i>Pm</i> sp.	20				
	5	<i>Botryosph</i>	100	<i>Pm</i> sp.	40	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	40
		<i>Cylind</i> sp.	40						
Graphium sp.	1	<i>Botryosph</i>	100	<i>Rhizoctonia</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Cylind</i> sp.	100
	2	<i>Botryosph</i>	100	<i>Graphium</i> sp.	20	NC 03	30	<i>Graphium</i> sp.	10
	3	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	4	NC 01	100	NC 01	100	<i>Graphium</i> sp.	20	<i>Graphium</i> sp.	10
	5	NC 02	60	<i>Graphium</i> sp.	40	NC 03	100	<i>Cylind</i> sp.	100
Cylind 01				NC 01	20	<i>Graphium</i> sp.	10		
	1	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Botryosph</i>	20	<i>Cylind</i> sp.	100
	2	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	60	<i>Cylind</i> sp.	100
	3	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	80
	4	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	100
Cylind 02	5	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	40
	1	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	20
	2	<i>Cylind</i> sp.	20	Neg		<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	20
	3	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	4	<i>Cylind</i> sp.	20	Neg.		<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100
Cylind 03		<i>Botryosph</i>	20						
	5	Neg.		<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	30
	1	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	80
	2	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	80
	3	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	100
Cylind 03	4	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	100
	5	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	80

<i>Fus</i> sp. 1	1	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	100
	2	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	40	<i>Fus</i> sp.	100
	3	<i>Botryosph</i>	40	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	80	<i>Fus</i> sp.	100
	4	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	100
	5	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	40	<i>Fus</i> sp.	100	Neg.	
<i>Fus</i> sp. 2	1	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100
	2	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	40	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	80
	3	<i>Fus</i> sp.	20	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	80
	4	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	80	<i>Botryosph</i>	100	Neg.	
	5	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100
<i>Fus</i> sp. 3	1	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	100
	2	<i>Botryosph</i>	60	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	20	<i>Fus</i> sp.	60
	3	<i>Fus</i> sp.	40	Neg.		<i>Botryosph</i>	80	<i>Fus</i> sp.	100
	4	<i>Botryosph</i>	20	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	60	<i>Fus</i> sp.	100
	5	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	100
<i>Las brasiliense</i>	1	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	40	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	40
	2	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	40
	3	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	20	<i>Botryosph</i>	40	<i>Botryosph</i>	100
	4	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	80
	5	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	20	Neg.		<i>Botryosph</i>	100
<i>Fus</i> sp. 04	1	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	20	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	20
	2	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Penicillium</i>	40	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	20
				<i>Fus</i> sp.	20				
	3	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	80	<i>Fus</i> sp.	100
	4	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Alternaria</i>	20	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100
<i>Fus</i> sp. 5	1	<i>Botryosph</i>	20	<i>Botryosph</i>	40	<i>Fus</i> sp.		<i>Fus</i> sp.	
	2	<i>Botryosph</i>	100	<i>Alternaria</i>	20	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	20
				<i>Fus</i> sp.	40	<i>Fus</i> sp.		NC 01	40
	3	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	80	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	60
	4	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	40	<i>Fus</i> sp.	100	NC 01	100
<i>Cylind</i> sp. 4	1	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Fus</i> sp.	40	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	80
	2	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100
	3	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	80	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100
	4	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Botryosph</i>	100
	5	<i>Botryosph</i>	100	<i>Fus</i> sp.	80	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100
<i>Cylind</i> sp. 5	1	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Cylind</i> sp.	100
	2	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	3	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	4	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	80	Neg.		<i>Cylind</i> sp.	100
	5	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Alternaria</i>	20				
Testigo	1	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Alternaria</i>	40	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	2	NC 01	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Alternaria</i>	100	<i>Botryosph</i>	100
	3	NC 04	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Botryosph</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	60
	4	Neg.		<i>Cylind</i> sp.	100	NC 03	100	<i>Tricho</i>	60
	5	<i>Alternaria</i>	40	<i>Fus</i> sp.	20	<i>Tricho</i>	20	<i>Cylind</i> sp.	20
Testigo	1	<i>Fus</i> sp.	20						
	2	NC 04	60	<i>Cylind</i> sp.	100	NC 01	100	NC 05	20
	3	NC 01	10						
	4								
	5								

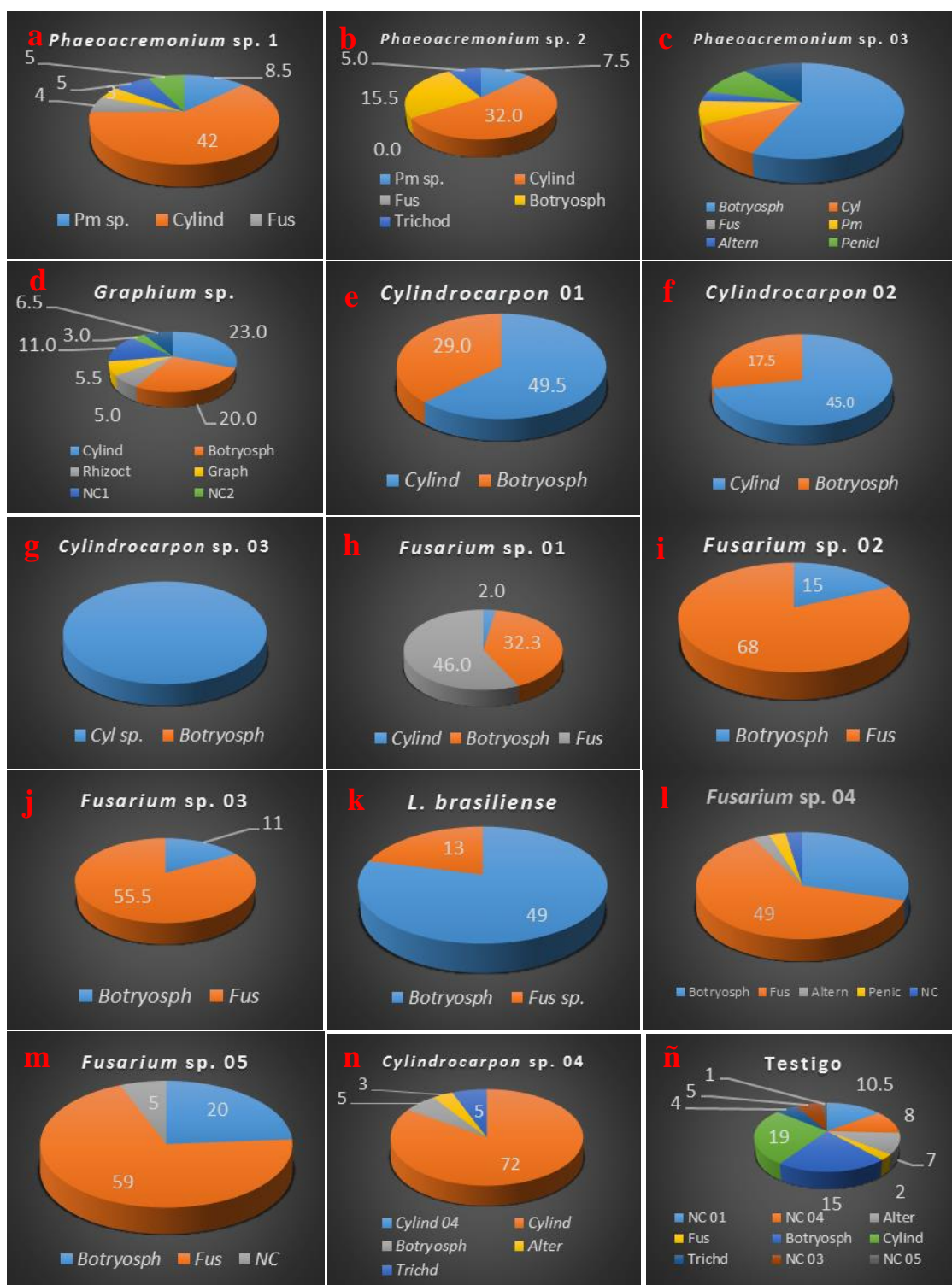


Gráfico 1. Frecuencia de hongos reaislados de la zona de injertación de plantas inoculadas con diferentes aislamientos fúngicos.

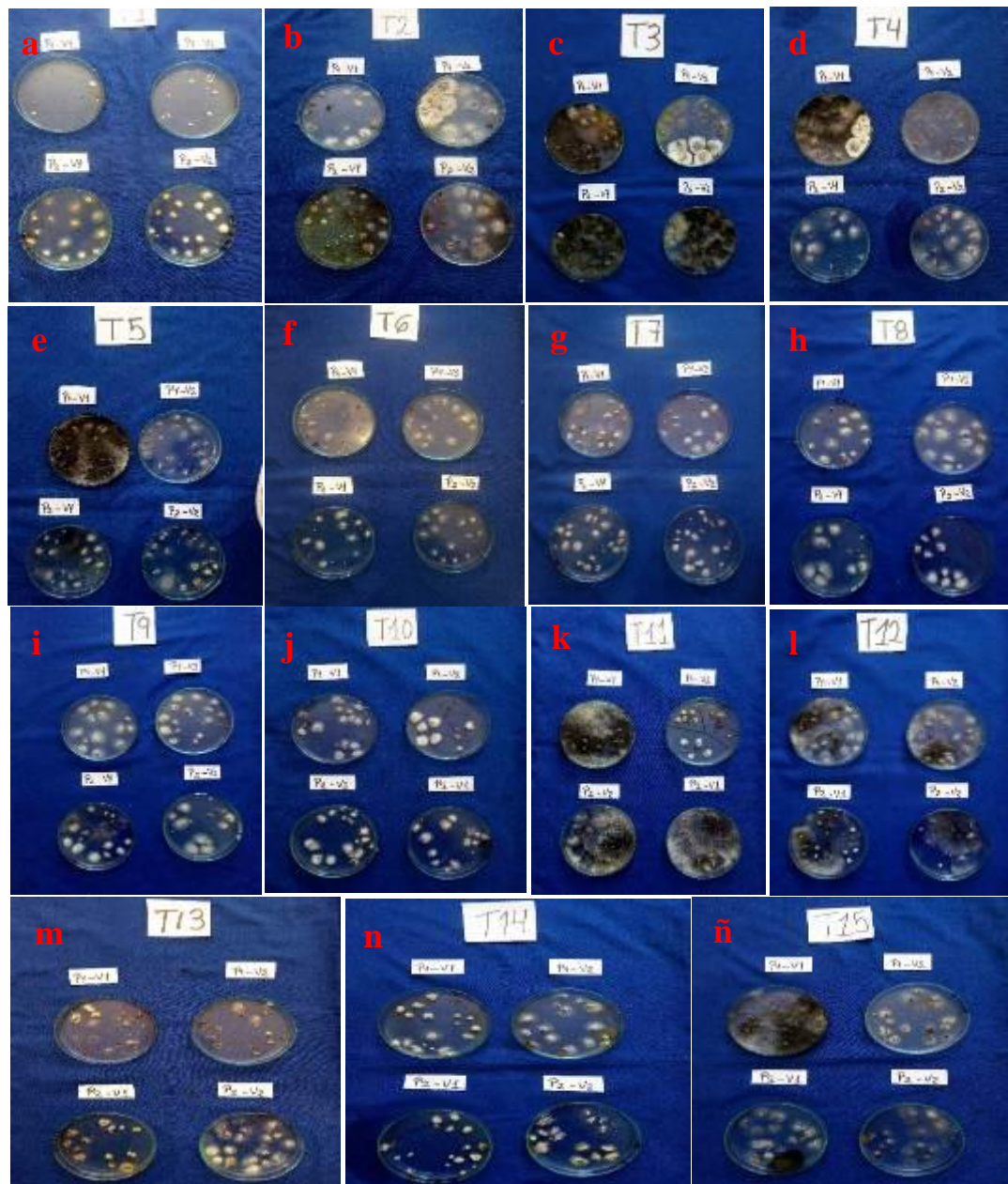


Fig. 7. Colonias de hongos reaislados y de otros hongos de la zona de injertación. Nótese en todos los casos, que se recuperaron las colonias de hongos de las mismas plantas en que se inocularon más otros hongos que no fueron inoculados. Esto demuestra que estos hongos o llegaron del material madre o contaminaron durante el momento de la injertación

4.1.3 Eficacia de *Trichoderma harzianum* frente a *Cylindrocarpon* sp. 04.

En el aspecto del follaje de las variedades

El ANVA de la Tabla 19 del Anexo indica diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 19 del anexo). El mejor follaje visto como el follaje con menor grado de severidad lo presentó *Trichoderma* + Licthor 5000 ppm (Tabla 7), como lo indican los Gráficos 21 de severidad y 22 de severidad media, ambos del Anexo. Mejor aspecto de follaje se observó en Freedom/Sweet Globe y Freedom/Ivory, ambos con significativamente menor grado de severidad (Tabla 8).

En la altura del follaje de las variedades

EL ANVA de la Tabla 20 del Anexo indica diferencias significativas entre los tratamientos, *Trichoderma* + Licthor 5000 ppm influyó en una significativa mayor altura (Tabla 7), indicada en los gráficos 23 de altura y 24 de altura media, ambos del Anexo. En las combinaciones patrón/variedad todos los tratamientos se comportaron iguales (Tabla 8).

En el peso seco del follaje de las variedades

El ANVA de la tabla 21 del Anexo indica diferencias significativas entre los tratamientos estudiados. *Trichoderma* + Licthor 5000 ppm influyó significativamente en un mayor peso seco (Tabla 7), como se observa en los Gráficos 25 del peso seco y 26 del peso seco medio, ambos del Anexo. En las combinaciones patrón/variedad todos los tratamientos se comportaron estadísticamente iguales (Tabla 8).

En el diámetro de las variedades

Los resultados del ANVA de la Tabla 22 del Anexo expresaron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 22 del Anexo). *Trichoderma* + Licthor 5000 ppm seguido del Licthor 5000 ppm, influyeron significativamente en un mayor diámetro (Tabla 7), como se observa en los Gráfico 27 del diámetro y 28 del diámetro medio, ambos del Anexo. En las combinaciones patrón/variedad todos los tratamientos se comportaron estadísticamente iguales (Tabla 8).

En la severidad de la necrosis en la zona de injertación

De acuerdo al ANVA de la Tabla 23 del Anexo, hubo diferencias significativas entre Tratamientos (Tabla 23 del Anexo). Significativamente menor en Licthor 5000 ppm, seguido de *Trichoderma* + Licthor 5000 ppm y *Trichoderma* (Tabla 7), se observa en los Gráficos 29 de severidad y 30 de severidad media, ambos del Anexo. Fue significativamente mayor en Freedom/Sweet Globe (Tabla 8) .

En el peso seco del tallo de los patrones

El ANVA de la Tabla 24 del Anexo indica que se presentaron diferencias entre tratamientos (Tabla 24 del Anexo). Significativamente mayor en el testigo y significativamente menor en *Cylindrocarpon* sp. 04 + *Trichoderma* + Licthor 5000 ppm (Tabla 7), indicado en los Gráficos 31 de peso seco y 32 del peso seco medio, ambos del Anexo. En las combinaciones patrón/variedad (Tabla 8) todos los aislamientos se comportaron iguales.

En el aspecto de las raíces de los patrones

El ANVA de la Tabla 25 del Anexo indica diferencias significativas entre tratamientos. Fue mejor en los tratamiento Licthor + *Trichoderma* y Licthor 5000 ppm, expresados por un significativamente menor grado de severidad, seguidos por el Testigo y por *Trichoderma* (Tabla 7). Se observa en los Gráficos 33 de severidad y 34 de severidad media, ambos del Anexo. Fue mejor en las combinaciones Freedom/Ivory y Freedom/Sweet Globe expresado en un significativo menor grado de severidad (Tabla 8).

Longitud de raíces de los patrones

El ANVA de la Tabla 26 del Anexo indica diferencias significativas entre tratamientos, significativamente mayor en *Cylindrocarpon* 04 y menor en *Cylindrocarpon* 04 + Licthor 5000 ppm (Tabla 7), indicado en los Gráficos 35 y 36, ambos del Anexo. Significativamente mayor en las combinaciones de Freedom Sweet Globe y Freedom/Ivory (Tabla 8).

Peso seco de raíces de los patrones

Según el ANVA de la Tabla 27 del Anexo hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Significativamente mayor en Licthor 5000 ppm y Testigo, menor en *Cylindrocarpon* sp. 04 (Tabla 7), explicado en los Gráficos 37 y 38, ambos del Anexo. Fue significativamente mayor en las combinaciones de Freedom (Tabla 8).

Tabla 7. Prueba comparativa de medias de Duncan eficacia de *T. harzianum* en el control de *Cylindrocarpon* sp. 04. Piura-Perú, 2018

Tratamiento	Aspecto follaje (Grados)	Altura follaje (cm)	Peso seco follaje (g)	Diámetro variedad (cm)	Severidad zona injertación (Grados)	Peso seco tallo del patrón (g)	Aspecto de las raíces (Grados)	Longitud de raíces (cm)	Peso seco raíces (g)
<i>Cylind</i> sp.04	4,03 bc	10,78 a	1,35 a	2,00 ab	3,98 e	8,88 ab	3,13 cd	16,88 c	0,35 a
<i>Cylind</i> sp. 04+ Licthor 5000 ppm	4,08 c	10,83 a	1,44 a	1,83 a	3,68 de	7,85 ab	3,25 d	9,45 a	0,37 a
<i>Tricho</i>	3,65 bc	18,13 ab	2,24 a	3,10 bcd	1,38 ab	8,90 ab	2,10 ab	16,00 bc	0,58 ab
<i>Tricho</i> + Licthor 5000 ppm	2,78 a	31,33 c	3,56 b	4,73 e	1,05 ab	7,45 ab	1,48 a	15,90 bc	0,98 c
<i>Cylind</i> sp. 04 + <i>Tricho</i>	4,00 bc	15,63 ab	1,83 a	2,15 abc	3,08 cd	8,30 ab	2,78 bcd	12,15 ab	0,45 a
<i>Cylind</i> sp. 04+ <i>Tricho</i> + Licthor 5000 ppm	3,90 bc	14,10 ab	1,38 a	2,55 abc	2,78 c	6,96 a	2,30 abc	12,15 ab	0,57 ab
Licthor 5000 ppm	3,38 b	22,70 b	2,34 a	3,75 de	0,83 a	8,17 ab	1,48 a	14,30 bc	0,85 bc
Testigo	3,98 bc	15,70 ab	2,05 a	3,25 cd	1,65 b	9,70 b	1,98 ab	13,73 bc	1,12 c

Tabla 8. Prueba comparativa de medias de Duncan eficacia de *Trichoderma* en el control de *Cylindrocarpon* sp. 04 en cuatro combinaciones patrón/variedad. Piura-Perú, 2018

Combinación	Aspecto del follaje (Grados)	Altura del follaje (cm)	Peso seco del follaje (g)	Diámetro variedad (cm)	Severidad zona de injerto (Grados)	Peso seco tallo del patrón (g)	Aspecto de las raíces (Grados)	Longitud de raíces (cm)	Peso seco de raíces (g)
P1 / V1	3,41 a	19,03 a	2,50 a	2,54 a	3,03 b	8,24 a	2,01 ab	17,31 b	0,79 b
P1 / V2	3,73 ab	19,84 a	2,16 a	3,14 a	2,23 a	8,61 a	1,89 a	15,85 b	0,80 b
P2 / V1	3,90 b	15,54 a	1,66 a	2,69 a	1,90 a	8,09 a	2,79 c	10,65 a	0,41 a
P2 / V2	3,85 b	15,19 a	1,77 a	3,31 a	2,05 a	8,17 a	2,55 bc	11,46 a	0,62 ab

¹ Freedom/Sweet Globe ² Freedom/Ivory ³ Salt Creek/Sweet Globe ⁴ Freedom/Ivory

Reaislamiento de hongos

De acuerdo a la Tabla 9, al final de esta fase a 60 días después del trasplante, además de reaislar los hongos que se inocularon; también, se aislaron otros hongos que no habían sido inoculados (Fig. 3, Gráfico 20).

De las plantas con el tratamiento *Cylindrocarpon* sp. 04 se aisló con baja frecuencia *Trichoderma*, *Botryosphaeria* y *Penicillium* (Fig. 3a, Gráfico 20a).

En plantas tratadas con *Cylindrocarpon* sp. 04 + Licthor 5000 ppm se aislaron también en baja frecuencia *Botryosphaeria*, *Fusarium* y *Penicillium* (Fig. 3b, Gráfico 20b).

De plantas Tratadas con *Trichoderma*, se aislaron con baja frecuencia *Cylindrocarpon*, *Cladosporium* y *Fusarium* (Fig. 3c, Gráfico 20c).

De plantas tratadas *Trichoderma* + Licthor 5000 ppm, se aislaron también *Fusarium* y *Cylindrocarpon* (Fig. 3d, Gráfico 20d).

De plantas tratadas con *Cylindrocarpon* sp. 04 + *Trichoderma* se aisló en baja frecuencia *Cladosporium* sp. (Fig. 3e, Gráfico 20e).

De plantas que se trataron con *Cylindrocarpon* sp. 04 + *Trichoderma*+ Licthor 5000 ppm no se aislaron otros hongos (Fig. 3f, Gráfico 20f).

De plantas tratadas con Licthor 5000 ppm se aisló con alta frecuencia *Cylindrocarpon* sp., *Botryosphaeria* y *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. se aisló en baja frecuencia (Fig. 3g, Gráfico 20 g).

De plantas Testigo se aislaron con regular frecuencia *Cylindrocarpon*, *Botryosphaeria*, *Alternaria* y *Cladosporium*. Con muy baja frecuencia, en un solo caso se aisló *Trichoderma* (Fig. 3g, Gráfico 20g).

Tabla 9. Hongos reaislados de la zona de injertación en cuatro *combinaciones* patrón/variedad. Viveros El Tambo, Piura-Perú, 2018

Trat	Planta	Hongos aislados 60 días después de la inoculación en la zona de injertación							
		P1/V1	%	P1/V2		P2/V1	%	P2/V2	%
<i>Cylind</i> sp. 4	1	<i>Cylind</i> sp.	90	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	50
		<i>Tricho</i>	10						
	2	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Cylind</i> sp.	70
	3	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Penicillium</i>	100
		<i>Tricho</i>	30						
	4	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	10	<i>Penicillium</i>	100
		<i>Tricho</i>	20			<i>Botryosph</i>	10		
	5	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	70	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Botryosph</i>	50
	6	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Botryosph</i>	40
						<i>Tricho</i>	10		
<i>Cylind</i> sp. 4 + <i>Licthor</i> 5000 ppm	1	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	2	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	3	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	30
				<i>Tricho</i>	10				
	4	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
		<i>Tricho</i>	20	<i>Fus</i> sp.	10				
		<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Pm</i> sp.	10	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	80
	5			<i>Botryosph</i>	20			<i>Botryosph</i>	10
				<i>Cylind</i> sp.	20				
	6	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Pm</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
<i>Tricho</i>				<i>Cylind</i> sp.	20				
	7	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Neg.</i>		<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Penicillium</i>	10
	8	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Penicillium</i>	30
		<i>Tricho</i>	30					<i>Cylind</i> sp.	30
	9	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
	10	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100
<i>Tricho</i>	1	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Tricho</i>	100
		<i>Tricho</i>	40						
	2	<i>Tricho</i>	20	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Cladosporium</i>	70
								<i>Tricho</i>	30
	3	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100
		<i>Tricho</i>	30						
	4	<i>Cylind</i> sp.	70	<i>Cladosporium</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Cladosporium</i>	20
		<i>Tricho</i>	80	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	90	<i>Tricho</i>	100
	5					<i>Cylind</i> sp.	10		
	6	<i>Tricho</i>	20	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Tricho</i>	100
<i>Tricho</i> + <i>Licthor</i> 5000 mm		<i>Cylind</i> sp.	50			<i>Cylind</i> sp.	70		
	7	<i>Tricho</i>	70	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	50
		<i>Fus</i> sp.	10					<i>Tricho</i>	50
	8	<i>Tricho</i>	70	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Tricho</i>	30	<i>Tricho</i>	100
				<i>Tricho</i>	30	<i>Fus</i> sp.	30		
	9	<i>Tricho</i>	30	<i>Tricho</i>	90	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100
				<i>Cylind</i> sp.	10				
	10	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	90
		<i>Tricho</i>	50	<i>Tricho</i>	80				
<i>Tricho</i> + <i>Licthor</i> 5000 mm	1	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Tricho</i>	30	<i>Tricho</i>	90	<i>Tricho</i>	100
		<i>Tricho</i>	70	<i>Fus</i> sp.	10				
	2	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100
	3	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	80	<i>Tricho</i>	100

	4	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	80	<i>Tricho</i>	100
	5	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	80	<i>Tricho</i>	20
						<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	50
	6	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	80	<i>Tricho</i>	100
	7	<i>Tricho</i>	20	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	90
	8	<i>Tricho</i>	60	<i>Tricho</i>	70	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	20
	9	<i>Tricho</i>	30	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100
		<i>Fus</i> sp.	50						
	10	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100
<i>Cylind</i> sp. 4 + <i>Tricho</i>	1	<i>Cylind</i> sp.	10	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	50
		<i>Tricho</i>	20	<i>Tricho</i>	40			<i>Tricho</i>	50
	2	<i>Tricho</i>	20	<i>Tricho</i>	20	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100
	3	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100
				<i>Tricho</i>	50				
	4	<i>Tricho</i>	60	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	70
		<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Tricho</i>	60			<i>Tricho</i>	30
	5	<i>Cylind</i> sp.	100	Neg.		<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Tricho</i>	60
						<i>Tricho</i>	70		
	6	<i>Cladosporium</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Cylind</i> sp.	90	<i>Tricho</i>	100
						<i>Tricho</i>	10		
	7	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Cylind</i> sp.	90	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	60
		<i>Tricho</i>	30	<i>Tricho</i>	10			<i>Tricho</i>	40
	8	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Cylind</i> sp.	10	<i>Cylind</i> sp.	90
		<i>Tricho</i>	20	<i>Tricho</i>	10	<i>Cylind</i> sp.	90		
<i>Cylind</i> sp. 4 + <i>Tricho</i> + <i>Lichthor</i> 5000 ppm	9	<i>Tricho</i>	10	<i>Tricho</i>	10	<i>Tricho</i>	100	<i>Cladosporium</i>	80
		<i>Pm</i> sp.	60	Neg		<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Tricho</i>	20
	10	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Tricho</i>	90	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Tricho</i>	100
				<i>Cylind</i> sp.	10	<i>Tricho</i>	40		
	1	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	70	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Tricho</i>	100
				<i>Tricho</i>	30	<i>Tricho</i>	10		
	2	<i>Tricho</i>	50	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Tricho</i>	60	<i>Tricho</i>	100
						<i>Cylind</i> sp.	20		
	3	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Tricho</i>	20	Neg.		<i>Tricho</i>	100
		<i>Tricho</i>	30	<i>Cylind</i> sp.	10				
	4	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	100
	5	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	90	<i>Cylind</i> sp.	90	<i>Cylind</i> sp.	100
						<i>Tricho</i>	10		
	6	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Cylind</i> sp.	90	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Tricho</i>	100
		<i>Tricho</i>	20	<i>Tricho</i>	10	<i>Tricho</i>	70		
<i>Lichthor</i> 5000 ppm	7	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	90	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Tricho</i>	100
		<i>Tricho</i>	20			<i>Tricho</i>	70		
	8	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	10	<i>Tricho</i>	100
				<i>Tricho</i>	10	<i>Tricho</i>	90		
	9	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	50
				<i>Tricho</i>	50	<i>Tricho</i>	40	<i>Tricho</i>	10
	10	<i>Tricho</i>	100	<i>Tricho</i>	40	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Tricho</i>	50
						<i>Tricho</i>	10		
<i>Lichthor</i> 5000 ppm	1	<i>Fus</i> sp.	70	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	40	<i>Botryosph</i>	100
	2	<i>Tricho</i>	100	<i>Fus</i> sp.	40	<i>Botryosph</i>	100	<i>Tricho</i>	50
	3	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Tricho</i>	10
								<i>Cylind</i> sp.	20
	4	Neg.		<i>Tricho</i>	100	<i>Botryosph</i>	10	<i>Fus</i> sp.	30
	5	<i>Tricho</i>	90	<i>Cylind</i> sp.	50	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100
		<i>Cylind</i> sp.	10	<i>Tricho</i>	10				
	6	<i>Tricho</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	20	<i>Cylind</i> sp.	80	<i>Fus</i> sp.	100
				<i>Tricho</i>	40	<i>Tricho</i>	20		

Testigo	7	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	60	<i>Alternaria</i>	10	<i>Fus</i> sp.	100
						<i>Cylind</i> sp.	90		
	8	<i>Tricho</i>	40	<i>Cylind</i> sp.	60	<i>Alternaria</i>	10	<i>Fus</i> sp.	100
				<i>Tricho</i>	10	<i>Cylind</i> sp.	90		
	9	<i>Cylind</i> sp.	10	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	90	<i>Fus</i> sp.	100
						<i>Tricho</i>	10		
	10	NC		<i>Tricho</i>	30	<i>Botryosph</i>	20	<i>Fus</i> sp.	100
	1	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Botryosph</i>	10
		<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cladosporium</i>	20	<i>Fus</i> sp.	20	<i>Botryosph</i>	30
	2					<i>Cladosporium</i>	20		
						<i>Tricho</i>	20		
	3	<i>Tricho</i>	20	<i>Botryosph</i>	60	<i>Fus</i> sp.	40	<i>Cylind</i> sp.	60
	4	<i>Cladosporium</i>	100	Neg		<i>Tricho</i>	30	<i>Cladosporium</i>	100
	5	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cladosporium</i>	100	<i>Cladosporium</i>	100	<i>Cladosporium</i>	100
	6	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Cladosporium</i>	100	<i>Cladosporium</i>	100	<i>Cladosporium</i>	100
	7	<i>Fus</i> sp.	100	<i>Cladosporium</i>	10	<i>Cladosporium</i>	40	<i>Botryosph</i>	50
				<i>Fus</i> sp.	20	<i>Alternaria</i>	10		
	8	<i>Tricho</i>	50	<i>Cladosporium</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	100	<i>Fus</i> sp.	100
		<i>Fus</i> sp.	30	<i>Cladosporium</i>	100	<i>Cylind</i> sp.	40	<i>Tricho</i>	10
	9	<i>Cylind</i> sp.	70					<i>Botryosph</i>	20
								<i>Alternaria</i>	10
	10	<i>Fus</i> sp.	20	<i>Cladosporium</i>	80	<i>Cylind</i> sp.	30	<i>Botryosph</i>	40
		<i>Cylind</i> sp.	70			<i>Alternaria</i>	10	<i>Fus</i> sp.	60

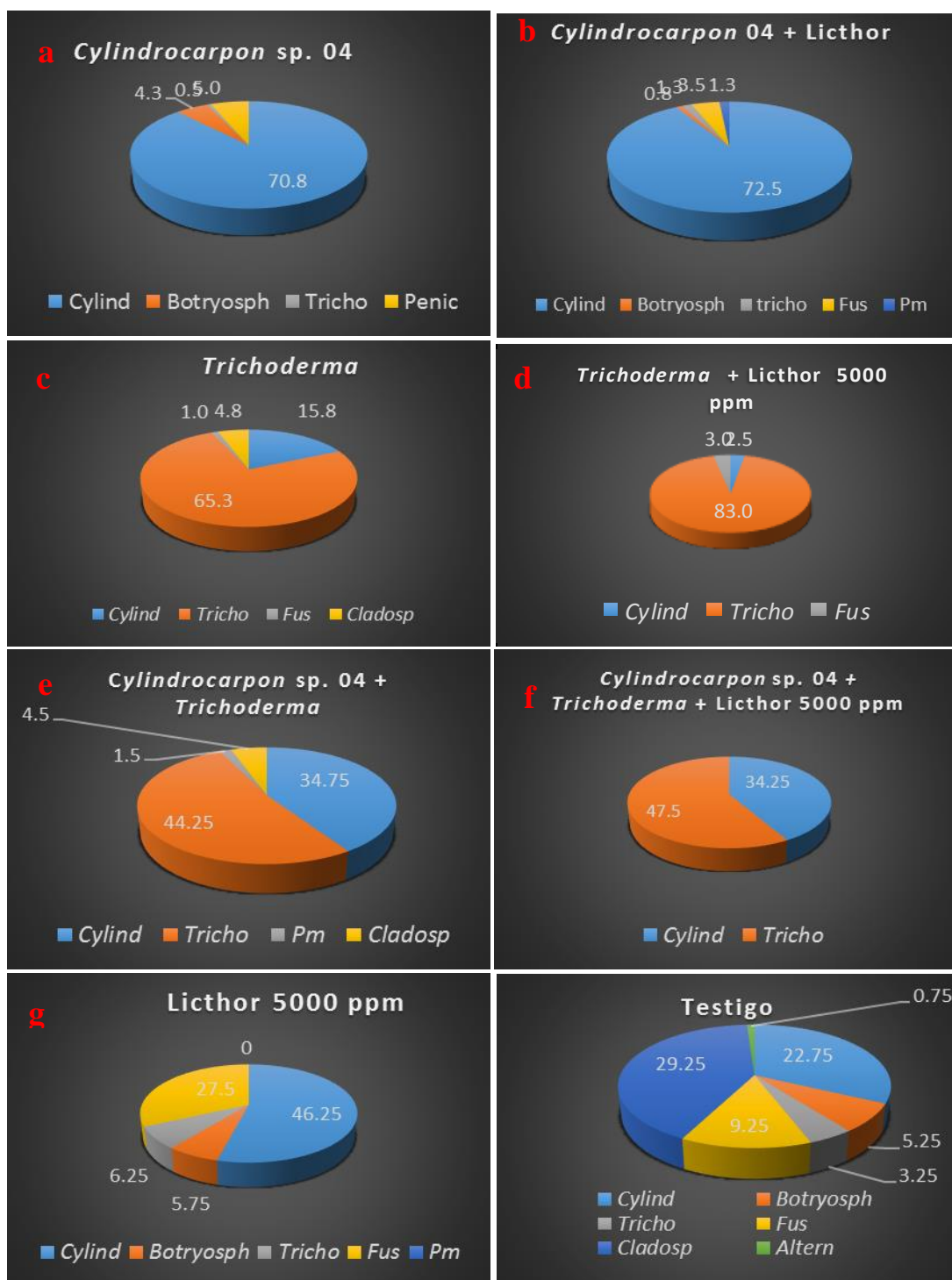


Gráfico 02. Hongos aislados de la zona de injertación de plantas inoculadas con *Cylindrocarpon* sp. 04 y co inoculadas con *Trichoderma*

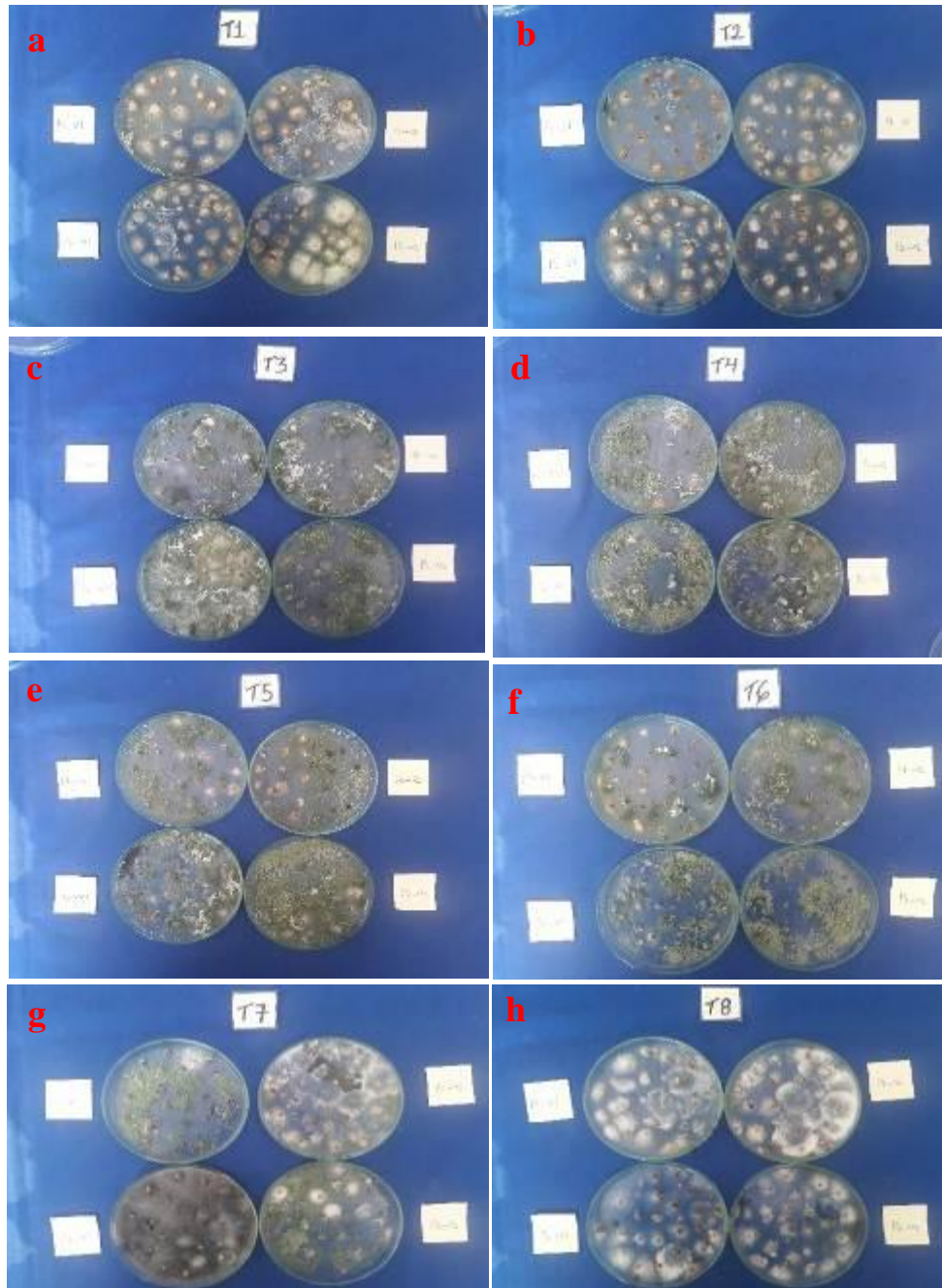


Fig. 8. Hongos aislados de la zona de inyección en plantas de vid 60 días después del trasplante a bolsa y que recibieron diferentes tratamientos que incluían el fungicida el biológico Valery Plus (*T. harzianum* + *T. viride*) coinoculado con *Cylindrocarpon* sp. 04 en la zona de inyección y el fungicida extracto vegetal biológico Lichor aplicado en drench tres veces a un volumen de 200 ml con frecuencia de 7 días y a una concentración de 5000 ppm. Igualmente, aparecieron hongos que no habían sido inoculados, lo que demuestra que proceden de material madre infectado de manera latente.

4.2 DISCUSIÓN

La presencia de *Phaeoacremonium* como endófitos en haces vasculares de la base de tallo y de cargadores de plantas madre sanas de los portainjertos Salt Creek y Freedom, concuerda con lo descrito por otros autores, quienes afirman que plantas madre de vid infectadas han demostrado ser una fuente de material de propagación infectado, además del suelo infestado y esporas aéreas. Fourie y Halleen (2004) encontraron *Phaeomoniella chlamydospora* y especies de *Phaeoacremonium* en varetas asintomáticas muestreadas de plantas madre portainjertos, a pesar de que la incidencia fue muy baja. Morton (1997) afirma que especies de *Phaeoacremonium* están ya presentes en el material de propagación (esquejes y portainjertos), derivados uno y otro de material madre que albergan infecciones fungosas en forma más o menos latente. Pascoe y Cottral (2000) afirman que el decaimiento Black goo parece causar muy severas pérdidas en viñedos plantados con material de propagación infectado; vides propagadas con esquejes infectados son lentos para establecerse o nunca pueden mostrar un crecimiento satisfactorio y los injertos pueden fallar en casos severos. Graniti *et al.* (2000) afirman que el endofitismo es un modo de vida, no meramente una adaptación ecológica para algunos grupos de hongos especializados y, que la mayoría de especies de plantas son conocidas por albergar hongos dentro de sus órganos aéreos sin signos visibles de la enfermedad. En realidad, los endófitos son algunas veces parásitos, pero más a menudo mutualistas, la planta hospedante se beneficia de la asociación como sucede por ejemplo con los endófitos fungosos en grases y en hojas de plantas leñosas (Siegal *et al.*, 1987). Los hongos patógenicos incluyen patógenos latentes viviendo sin síntomas en el tejido de la planta, por lo tanto son generalmente excluidos de los endófitos fungosos (Sinclair y Serkauskas, 1986), aunque Petrini (1991) ha propuesto una extensión a este término para que este grupo comprenda todos los organismos que en cualquier momento de su ciclo de vida viven asintomáticamente dentro de los tejidos de las plantas.

Es posible que el aislamiento de *Phaeoacremonium* en este trabajo, indique que la enfermedad que causa esté ya presente en las vides, aunque todavía solo en forma latente. Graniti *et al.* (2000) afirman que hay evidencia que especies o strains de *Phaeoacremonium* que colonizan los tejidos internos de vides son más o menos patógenicos, pero que la real expresión de los síntomas dependerá de otros factores,

tales como la edad y susceptibilidad de los cultivares infectados, el modo de infección, la edad y funcionabilidad de los anillos anuales invadidos, la reacción de los tejidos del hospedante y factores ambientales como nutrientes, suministro de agua, temperatura, etc. Tan pronto como se establezcan en los tejidos, empiezan a generar cambios en las funciones y estructura de la planta y cuando el deterioro del sustrato se torna lo suficientemente grande, con una evidente reacción del hospedante y la formación de subproductos dañinos, los tejidos infectados se tornan sintomáticos. Los síntomas externos son producidos por metabolitos – toxinas y enzimas – que se extienden a través del parénquima de la madera y eventualmente alcanzan órganos aéreos vía la corriente de transpiración en el xilema que funciona (Sparapano *et al.*, 1998). Bajo condiciones de estrés, puede resultar en una lenta marchitez de los brotes y racimos de uva o un colapso repentino de una planta entera llamado apoplejía.

En el caso de *Cylindrocarpon* sp., aislado de raíces del patrón Salt Creek y de base de tallo del patrón Freedom, como endófito asintomático, tendría una explicación parecida a *Phaeoacremonium*, aunque hay que considerar que es un habitante común del suelo y que afecta la corteza.

Lo discutido anteriormente explica en parte la presencia de *Phaeoacremonium*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Graphium* y *Lasiodiplodia* en la zona de injertación de las plantas enfermas que se estudiaron. Entonces, el origen de estos hongos puede ser porque viven como endófitos en plantas madre y subsecuentemente, los esquejes y vástagos serán sus portadores. La vía de ingreso de estos hongos también puede ocurrir durante el proceso de injertación por esporas contenidas en el aire, fuentes de agua contaminadas para el proceso de hidratación, máquinas injertadoras infestadas, desyemado, injertado, el proceso de inducción del callo basal en las plantas recién injertadas y el enraizamiento de estas en campo (Gramaje y Armengol, 2011). *Cylindrocarpon* puede ingresar vía suelo por la herida de corte cuando las plantas se trasplantan a bolsa en vivero. Helleen *et al.* (2003), de esquejes callosos antes de su trasplante a bolsas en vivero, aislaron *Phaeomoniella chlamydospora* y *Phaeoacremonium* spp., ambos patógenos primarios asociados a la enfermedad de Petri que ya estaban presentes en el material madre de propagación como endófitos. Sin embargo, raramente aislaron *Cylindrocarpon*, agente causal de la enfermedad “pie

negro”, sugiriendo el bajo porcentaje de supervivencia de las plantas de vid observado en los últimos años se debe en parte al material de propagación infectado y a las nuevas infecciones establecidas en los viveros.

En esta investigación se justifica la selección del aislamiento *Cylindrocarpon* sp. 04 para el posterior estudio sobre manejo de la enfermedad por su mayor grado de patogenicidad en las plantas inoculadas, en las que ocasionó un más disminuido aspecto del follaje, menor altura del follaje menor peso del follaje, menor diámetro de la variedad, alta severidad en la zona de injertación, significativa reducción en la masa, peso de raíces y longitud de raíces. Por otra parte, el hecho de que en plantas que no se inocularon al momento de la injertación con *Cylindrocarpon* sp. 04, aparezca en regular a alta frecuencia *Cylindrocarpon* sp., sugeriría que este hongo también viene del material madre o que estaría ingresando por la herida de la vareta al momento del trasplante y que luego tenga la habilidad de avanzar verticalmente hacia la zona de injertación; en todo caso, es un tema que tendría que investigarse.

El tratamiento antagonista biológico *Trichoderma harzianum* inoculado al momento de la injertación combinado con el fungicida extracto vegetal biológico Licthor 5000 ppm aplicado tres veces semanalmente después del trasplante a bolsa a volúmenes de 200 ml por planta en drench, resultó ser el mejor en el control de la enfermedad en ausencia del patógeno, pero en presencia de los hongos que vienen del materia madre o que ingresan durante el proceso de injertación o que ingresan después del trasplante a bolsa en vivero. Este tratamiento influyó significativamente en un mejor aspecto, altura, y peso seco del follaje y diámetro de la variedad; así como en menor necrosis en la zona de injertación y mejor calidad en el sistema radicular del patrón medido en mayor cantidad, longitud y peso seco de raíces de los patrones. El efecto de los tratamientos con los fungicidas biológicos se evidencia porque las plantas tratadas con *Trichoderma harzianum* + Licthor 5000 ppm se comportaron superiores a las plantas tratadas con *Cylindrocarpon* sp. 04 principalmente por un significativo menor daño en la zona de injertación y una significativa mayor masa radicular. El efecto de los fungicidas biológicos aplicados solos, también se evidencia porque la severidad en la zona de injertación en ambos casos es significativamente menor que la severidad en la zona de injertación de las plantas inoculadas solo con *Cylindrocarpon* sp. 04.

Los resultados obtenidos con los tratamientos con *Trichoderma* en esta investigación sobre la mejora de la calidad de la planta, tienen su sustento en otros trabajos realizados inoculando *Trichoderma* durante la injertación, en los cuales, las plantas de vivero resultaron con uniones de injerto más fuertes y mejor sistema radicular que el encontrado en los controles (Messina, 1999, Di Marco *et al.*, 2004). Fourie *et al.* (2001) reportan que enmiendas de *Trichoderma* aplicadas al suelo tuvieron los mismos efectos.

Respecto al fungicida extracto vegetal biológico, en Piura, Javier (2018) encontró bajo condiciones *in vitro* que concentraciones entre 5000-10000 ppm inhibieron significativamente el crecimiento de *Cylindrocarpon* sp. y *Lasioidiplodia theobromae*.

CONCLUSIONES

1. De diferentes órganos de plantas madre sanas de vid se aislaron e identificaron especies endófitas asintomáticas de *Phaeoacremonium*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Lasiodiplodia*, *Alternaria* y *Graphium*
2. El aislamiento *Cylindrocarpon* sp. 04, demostró mayores grados de patogenicidad al inocularlo en la zona de injertación, especialmente en las combinaciones Salt Creek/Sweet Globe y Salt Creek/Ivory.
3. *Trichoderma harzianum* inoculado al momento de la injertación y tres aplicaciones semanales posteriores en drench de Licthor 5000 ppm después del trasplante a volúmenes de 200 ml influyó en un mejor vigor de las plantas.
4. Especies de los hongos *Cylindrocarpon*, *Botryosphaeria* y *Fusarium* se aíslan normalmente de la zona de injertación patrón/variedad de vid.

RECOMENDACIONES

1. Continuar estudios sobre aislamiento e identificación de hongos que se encuentran como endófitos asintomáticos en diferentes órganos de plantas madre y hongos asociados a la zona de injertación de plantas enfermas.
2. Investigar si *Cylindrocarpon* sp. que se encuentra en la zona de injertación de plantas enfermas se propaga desde el material madre o si infecta las plantas por la herida de corte estando las plantas en vivero.
3. Realizar estudios de detección de hongos de la madera de la vid en las diferentes fases del proceso de producción de nuevas plantas injertadas mediante técnicas clásicas y técnicas moleculares.
4. Continuar con los estudios sobre control de hongos que se encuentran afectando la zona de injertación de vid con cepas nativas de *Trichoderma*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROREPORTS. 2014. UVA DE MESA PERUANA. Análisis de Oportunidades en el Mercado Chino. Web: <http://www.agroreports.com>

Alaniz S, M León, A Vicent J García-Jiménez P Abad-Campos y J Armengol. 2007. Characterization of *Cylindrocarpon* species associated with black foot disease of grapevine in Spain. *Plant Disease*, 91: 1187-1193.

Arias-Giralda A. 1998. Eutipiosis. En: *Los parásitos de la vid: estrategias de protección razonada*. 5ª edición pp. 193-195. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ediciones Mundi-Prensa.

Barnett HL and BB Hunter. 1998. Illustrated genera imperfect fungi. Editorial Burgess Publishing Company. USA. 241 pp.

Barron GL. 1968. The genera of Hyphomycetes from soil. Editorial the Williams & Williams Company. USA. 364 pp.

Bertelli E, L Mugnai y G Surico. 1998. Presence of *Phaeoacremonium chlamydosporum* in apparently healthy rooted grapevine cuttings. *Phytopathologia Mediterranea*, 37: 79-82.

Chiarappa L. 2000. Esca (black measles) of grapevine. An overview. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 11-15.

Cobos R. 2008. Los Decaimientos de la vid en Castilla y León: Aislamiento, Caracterización y Métodos de control de las enfermedades de la madera de la vid (*Vitis vinifera*). 166 pág. [Tesis doctoral]. Salamanca: Universidad de Salamanca. http://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/22499/1/DMG_Decaimientos%20de%20la%20vid%20en%20Castilla%20y%20Leon.pdf [Acceso: 28 de junio del 2010]

Crous PW, W Gams, MJ Wingfield and PS Van Wyk. 1996. *Phaeoacremonium* gen.nov. associated with wilt and decline diseases of woody hosts and human infections. *Mycologia*, 88 (5): 786-796.

Di Marco S, F Calzamero, F Osti and A Mazullo. 2004. Pathogenicity of fungi associated with decay of Kiwi fruit. *Australian Plant Pathology* 33: 337-342.

Dubos B. 2002. Maladies cryptogamiques de la vigne. Ed. Feret. Bordeaux. Lecomte, P., Péros, J.P., Blancard, D., Bastien, N. y Délye, C. (2000). PCR assays that identify the grapevine dieback fungus *Eutypa lata*. *Applied and environmental microbiology*, 66 (10): 4.475-4.480.

Ellis MB. 1971. Dematiaceous, Hyphomycetes. C.A.B. International Mycological Institute Kew, England. 608 pp.

Fourie PH, Halleen F, J Van der Vyver y W Shreuder. 2001. Effect of Trichoderma treatments on the occurrence of decline pathogens in the roots and rootstocks of nursery grapevines. *Phytopathologia Mediterranea* 40: S473-478.

French ER y TT Hebert. 1980. Métodos de investigación fitopatología. Editorial IICA. San José, Costa Rica. 277 pp.

García Jiménez J. 2004. Enfermedades fúngicas de la madera. En: *Los parásitos de la vid: estrategias de protección razonada*. 5ª edición pp. 221-228. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ediciones Mundi-Prensa.

GESTION. 2017. Perú se consolida como el segundo exportador de uvas a EE.UU. y quinto al mundo [acceso 30 de junio del 2017]. <http://gestion.pe/economia/peru-se-consolida-como-segundo-exportador-uvas-eeuu-y-quinto-al-mundo-2181260>.

González G. 2005. Identificación de hongos filamentosos. Métodos básicos en el laboratorio de Micología. UANL- México; diciembre del 2005 [acceso 23 de junio del 2010]. Disponible en: <http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-12-2016/documentos/conferencias/07.pdf>.

Gramaje D y J Armengol. 2011. Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management strategies. *Plant Disease* 95, 1040-1055.

Graniti A, G Surico and L Mugnai. 2000. Esca of grapevine: a disease complex or a complex of disease? *Phytopathol. Mediterr* 39: 16-20.

Halleen F, PW Crous and O Petrini. 2003. Fungi associated with healthy grapevine cuttings in nurseries, with special reference to pathogens involved in the decline of young vines. *Australian Plant Pathology* 32: 47-52.

Halleen F, HJ Schroers JZ Groenewald and PW Crous. 2004. Novel species of *Cylindrocarpon* (Neonectria) and *Campilocarpon* gen. nov. associated with black foot disease of grapevines (*Vitis* spp.). *Studies in Mycology*, 50: 431-455.

Hewitt WB. 1996. Secado del sarmiento por Diplodia y Podredumbre ácida del racimo. Diplodia Cane Dieback and Bunch Rot. En: *Plagas y enfermedades de la vid*, pp 25-26.

Hidalgo L. 2002. Tratado de viticultura general. Mundi-Prensa. Madrid. España. 3ª Ed. 1235 pp.

Javier-Alva J, A López y A Morales. 2013. Estudio preliminar de hongos asociados al decaimiento y muerte de plantas jóvenes de vid en Piura. En: En: XXII Congreso Peruano y XVII Congreso Latinoamericano de Fitopatología [libro de resúmenes] Lambayeque-Perú. Pp 44. *Fitopatologia* 45 (1):39-40.

Javier-Alva J. 2018. Diagnóstico, epidemiología y control de enfermedades bacterianas y fungosas de la vid en tres zonas agroecológicas de Piura. Tesis para optar el Grado de Doctor en Ciencias Agrarias. 116 pp.

Larignon P, R Fulchic, L Cere y B Dubos. 2001. Observation on black dead arm in french vineyards. *Phytopathologia Mediterranea* 40 (3): 336–342.

López A y J Javier-Alva. 2013. Caracterización de *Phaeomoniella chlamydospora* y especies de *Phaeoacremonium* que afectan vid en piura. En: XXII Congreso Peruano y XVII Congreso Latinoamericano de Fitopatología [libro de resúmenes] Lambayeque-Perú. Pp 44.

Martín Blanco L. 2012. Caracterización molecular, fenotípica, patogénica y medios de control de *Phaeoacremonium aleophilum* y otros hongos asociados a los decaimientos de la vid en Castilla y León. Tesis Doctoral.

Martos S. 2008. El Decaimiento de la Vid. Enfermedades de la madera relacionadas con hongos de la familia Botryosphaeriaceae. 234Pág [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona.

http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-1120108-154322//sma1de1.pdf [Acceso: 28 de junio del 2010]

Medina CF. 2005. Efecto de combinaciones de productos comerciales denominados bioestimulantes y bionutrientes foliares sobre el rendimiento y calidad de granos de uva (*Vitis vinifera* L.) en el valle de Cieneguillo Sur- Piura. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. 81 pp.

Messina L. 1999. The use of beneficial *Trichoderma* in grapevine propagation. *Proceedings of the 1999 Conference of the Australian Region of the International Plant Propagators' Society*, Launceston, Tasmania, Australia.

Morales A, J Munive, L Álvarez y J Javier-Alva. 2013. Control biológico de la enfermedad de Petri en patrón de vid R-110 usando bacterias y hongos antagonistas. XXII Congreso Peruano y XVII Congreso Latinoamericano de Fitopatología [libro de resúmenes] Lambayeque-Perú. Pp 48.

Morton I. 1997. Update on black goo. *Wines Vines*. *WinesVines* 76(11): 46-47.

Moster L, JA Groenewald, RC Summerbell, W Gams and P Crous. 2006. Taxonomy and pathology of Togninia (Diaporthales) and its Phaeoacremonium anamorph. *Studies in Mycology* 54: 115 pp.

Mugnai L, A Graniti and G Surico. 1999. Esca (black measles) and brown wood-streaking: two old and elusive disease of grapevine. *Plant Disease* 83: 404-418.

Pascoe I and E Cottral. 2000. Developments in grapevine trunk diseases research in Australia. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 68-75.

Pérez Marín JL. 2004. Excoriosis (*Phomopsis viticola* Sacc.). En: *Los parásitos de la vid. Estrategias de protección razonada*, pp. 217-220. M.A.P.A. Mundi Prensa. Madrid.

Péros JP and G Berger. 1994. A rapid method to assess the aggressiveness of *Eutypa lata* isolates and the susceptibility of grapevine to *Eutypa* dieback. *Agronomie*, 14: 515-523.

Petit E and WD Gubler. 2005. Characterization of *Cylindrocarpon* species, the cause of black foot disease of grapevine in California. *Plant Disease*, 89: 1.051–1.059.

Petrini O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. *In: Microbial ecology of the leaves* (J.H. Andrews, S.S Hirano, Eds).Springer-Verlag, New York, USA, 179-197.

Sánchez-Torres P, R Hinarejos, V González and JJ Tuset. 2008. Identification and characterization of fungi associated with Esca in vineyards of the Comunidad Valenciana (spain); 07 de octubre del 2008. [Acceso 22 de junio del 2016]. Disponible en:http://www.inia.es/gcontrec/pub/650-660_Identification_and_characterization_1228219021546.pdf

Siegal MR, GCM Latch and MC Johnson. 1987. Fungal endophytes of grasses. *Annual Review of Phytopathology* 25: 293-315.

Sinclair JB and RF Cerkaskas. 1996. Latent infection vs. endophytic colonization by fungi. *In: Endophytic fungi in grasses and woody plants. Systematics, ecology and evolution.* (S.C. Redlin, L.M. Carris, Eds). APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 3-29.

Sotes RV, JR Lissarrague y AJ De la Iglesia Gonzales. 1989. Manual de Viticultura. Ediciones Mundi Prensa. Madrid - España. 369 pág.

Sparapano L, G Bruno, A Graniti. 1998. Esopolisaccaridi fitotossici sono prodotti in coltura da due specie di *Phaeoacremonium* associate al complesso del mal dell'esca della vite. *Petria*, 8, 210-212. (Abstract).

Surico G. 2000. The grapevines and wine production through the ages. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 3-10.

Surico G, L Mugnai y G Marchi. 2006. Older and more recent observations on esca: A critical overview. *Phytopathologia Mediterranea*, 45 (Supplement): 68–86.

Sutton BC. 1980. The Coelomycetes. Glasgow, England: Commonwealth Mycological Institute.

Tamaro D. 1987. Tratado de Fruticultura. Ediciones G. Gili, S.A. de CV. México. 12va. Edición. 928 pp.

Tejada J. 2013. Incidencia y manejo del complejo de hongos de La madera en el cultivo de vid región Ica. En: Fitopatología 45 (1):47-48.

Van Niekerk JM, PH Fourie, F Halleen and PW. Crous. 2006. *Botryosphaeria* spp. as grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 45 (Supplement): 43–54.

Webster J and RWS Weber. 2007. Introduction to Fungi. Cambridge University Press. 841 pp.

Zanzotto A, S Serra, W Viel and M Borgo. 2001. Investigations into the occurrence of esca- associated fungi in cuttings and bench-grafted vines. *Phytopathologia Mediterranea*.

ANEXO

Tabla 10. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre el aspecto del follaje de las variedades. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	183,347	14	13,096	11,658	,000
Combinación	643,343	3	214,448	190,903	,000
Hongo * Combinación	219,507	42	5,226	4,653	,000
Error	269,600	240	1,123		
Total	3287,000	300			
Total corregida	1315,797	299			

R cuadrado = 0 ,795 R cuadrado corregida = 0 ,745

Tabla 11. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre la altura del follaje de las variedades. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	56061,180	14	4004,370	9,191	,000
Combinación	140726,947	3	46908,982	107,672	,000
Hongo * Combinación	48520,553	42	1155,251	2,652	,000
Error	104560,000	240	435,667		
Total	684136,000	300			
Total corregida	349868,680	299			

R cuadrado = ,701 R cuadrado corregida = ,628

Tabla 12. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre el peso fresco del follaje de las variedades. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	18616,934	14	1329,781	14,958	,000
Combinación	23833,012	3	7944,337	89,361	,000
Hongo * Combinación	14148,567	42	336,871	3,789	,000
Error	21336,448	240	88,902		
Total	128754,735	300			
Total corregida	77934,960	299			

R cuadrado = 0,726 R cuadrado corregida = 0,659

Tabla 13. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre el diámetro de las variedades. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	279,220	14	19,944	43,834	,000
Combinación	6,987	3	2,329	5,118	,002
Hongo * Combinación	14,513	42	,346	,759	,857
Error	109,200	240	,455		
Total	4212,000	300			
Total corregida	409,920	299			

R cuadrado = 0,734 R cuadrado corregida = 0,668

Tabla 14. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre la severidad de la necrosis en la zona de injertación. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	142,400	14	10,171	4,821	,000
Combinación	91,210	3	30,403	14,409	,000
Hongo * Combinación	144,240	42	3,434	1,628	,013
Error	506,400	240	2,110		
Total	3495,000	300			
Total corregida	884,250	299			

R cuadrado = 0,427 R cuadrado corregida = 0,287

Tabla 15. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre el peso fresco del tallo de los patrones. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2677,333 ^a	59	45,379	7,060	,000
Intersección	25011,087	1	25011,087	3891,040	,000
Hongo	1820,920	14	130,066	20,235	,000
Combinación	355,282	3	118,427	18,424	,000
Hongo * Combinación	501,131	42	11,932	1,856	,002
Error	1542,688	240	6,428		
Total	29231,109	300			
Total corregida	4220,021	299			

R cuadrado = 0,634 R cuadrado corregida = 0,545

Tabla 16. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre el aspecto de raíces de los patrones. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	198,547	14	14,182	8,127	,000
Combinación	617,293	3	205,764	117,917	,000
Hongo * Combinación	192,307	42	4,579	2,624	,000
Error	418,800	240	1,745		
Total	3282,000	300			
Total corregida	1426,947	299			

R cuadrado = ,707 (R cuadrado corregida = ,634)

Tabla 17. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre la longitud de raíces de los patrones. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	8415,247	14	601,089	10,728	,000
Combinación	17018,480	3	5672,827	101,249	,000
Hongo * Combinación	5136,220	42	122,291	2,183	,000
Error	13446,800	240	56,028		
Total	100708,000	300			
Total corregida	44016,747	299			

R cuadrado = 0,695 R cuadrado corregida = ,619

Tabla 18. ANVA efecto de aislamientos fungosos sobre el peso fresco de raíces de los patrones. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	364,361	14	26,026	9,909	,000
Combinación	568,018	3	189,339	72,090	,000
Hongo * Combinación	282,758	42	6,732	2,563	,000
Error	630,342	240	2,626		
Total	3247,235	300			
Total corregida	1845,480	299			

a. R cuadrado = 0,658 R cuadrado corregida = 0,574

Tabla 19. ANVA efecto de tratamientos en el aspecto del follaje de las variedades. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Tratam	56,472	7	8,067	4,723	,000
Combinación	11,509	3	3,836	2,246	,083
Tratam * Combinación	32,366	21	1,541	,902	,588
Error	491,900	288	1,708		
Total	5025,000	320			
Total corregida	592,247	319			

R cuadrado = 0,169 R cuadrado corregida = 0,080

Tabla 20. ANVA efecto de tratamientos sobre la altura del follaje de las variedades. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Tratam	13062,922	7	1866,132	5,887	,000
Combinación	1355,684	3	451,895	1,425	,235
Tratam * Combinación	5739,091	21	273,290	,862	,641
Error	91300,900	288	317,017		
Total	208307,000	320			
Total corregida	111458,597	319			

R cuadrado = 0,181 R cuadrado corregida = 0,093

Tabla 21. ANVA efecto de tratamientos sobre el peso seco del follaje de las variedades. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	151,270	7	21,610	3,585	,001
Combinación	34,909	3	11,636	1,930	,125
Hongo * Combinación	86,817	21	4,134	,686	,847
Error	1736,016	288	6,028		
Total	3317,490	320			
Total corregida	2009,013	319			

R cuadrado = 0,136 R cuadrado corregida = 0,043

Tabla 22. ANVA efecto de tratamientos sobre diámetro de variedades. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	274,538	7	39,220	6,465	,000
Combinación	32,137	3	10,712	1,766	,154
Hongo * Combinación	194,013	21	9,239	1,523	,069
Error	1747,200	288	6,067		
Total	4974,000	320			
Total corregida	2247,888	319			

R cuadrado = 0,223 R cuadrado corregida = 0,139

Tabla 23. ANVA efecto de tratamientos sobre la severidad de la necrosis en la zona de injertación. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	23,432	7	3,347	6,054	,000
Combinación	8,251	3	2,750	4,974	,002
Hongo * Combinación	14,190	21	,676	1,222	,231
Error	159,231	288	,553		
Total	343,335	320			
Total corregida	205,103	319			

R cuadrado = ,224 R cuadrado corregida = ,140

Tabla 24. ANVA efecto de tratamientos sobre peso seco del tallo de patrones. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	215,301	7	30,757	1,240	,280
Combinación	12,501	3	4,167	,168	,918
Hongo * Combinación	607,638	21	28,935	1,167	,280
Error	7141,505	288	24,797		
Total	29894,110	320			
Total corregida	7976,945	319			

. R cuadrado = ,105 R cuadrado corregida = ,008

Tabla 25. ANVA efecto de tratamientos sobre el aspecto de raíces de los patrones. Piura-Perú, 2018

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	132,597	7	18,942	5,578	,000
Combinación	44,209	3	14,736	4,339	,005
Hongo * Combinación	85,466	21	4,070	1,198	,251
Error	978,100	288	3,396		
Total	2947,000	320			
Total corregida	1240,372	319			

Tabla 26. ANVA efecto de tratamientos sobre la longitud de raíces de los patrones. Piura-Perú, 2018

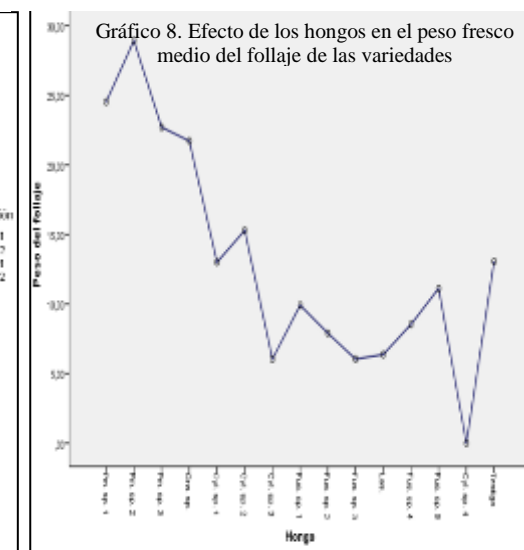
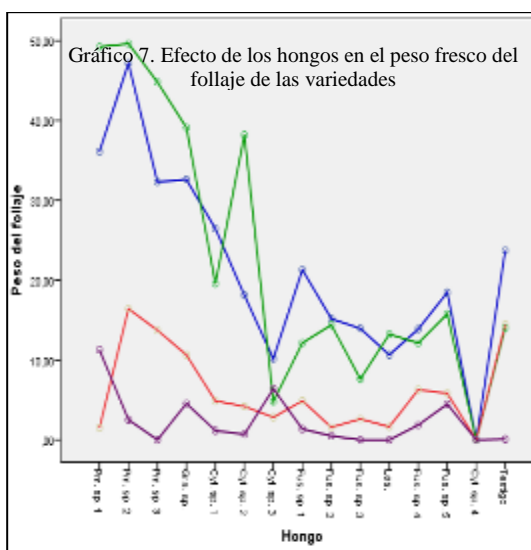
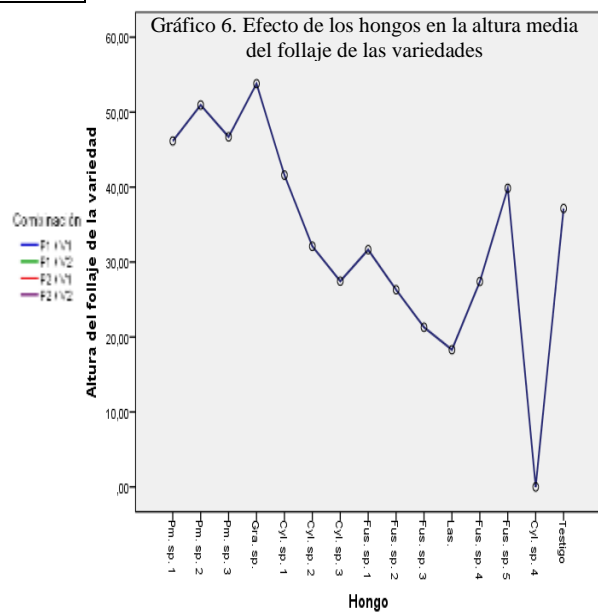
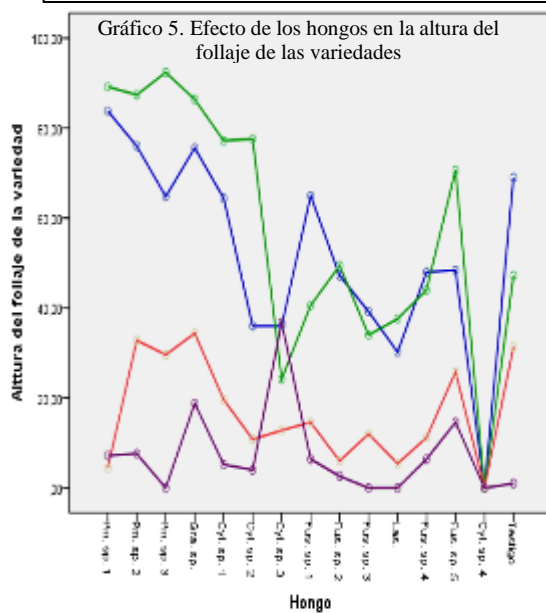
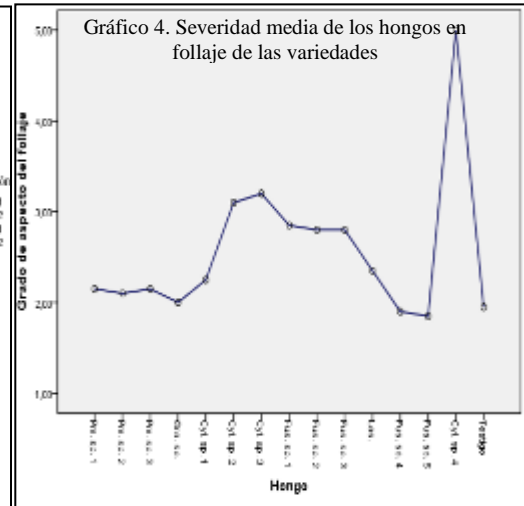
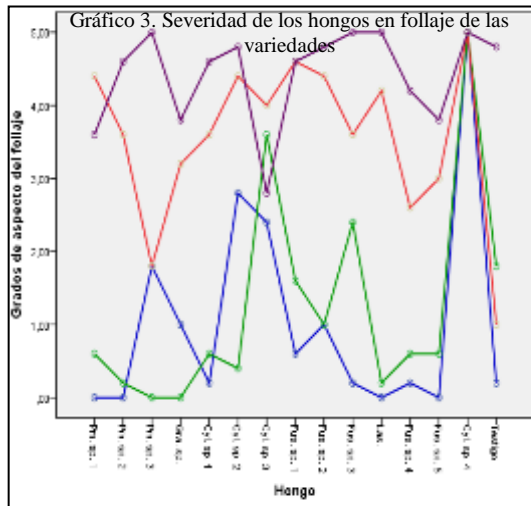
Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	1733,649	7	247,664	3,132	,003
Combinación	2553,745	3	851,248	10,766	,000
Hongo * Combinación	3611,802	21	171,991	2,175	,003
Error	22770,797	288	79,065		
Total	91779,270	320			
Total corregida	30669,994	319			

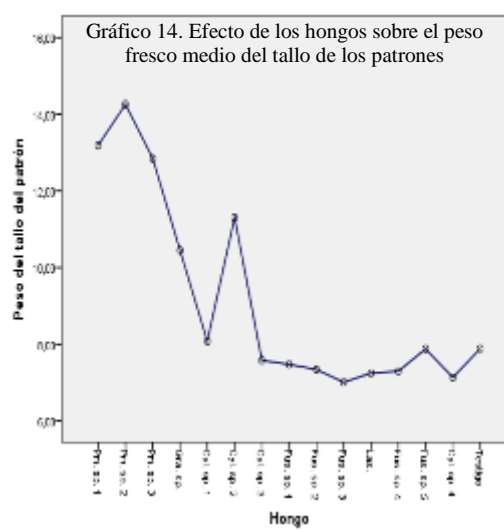
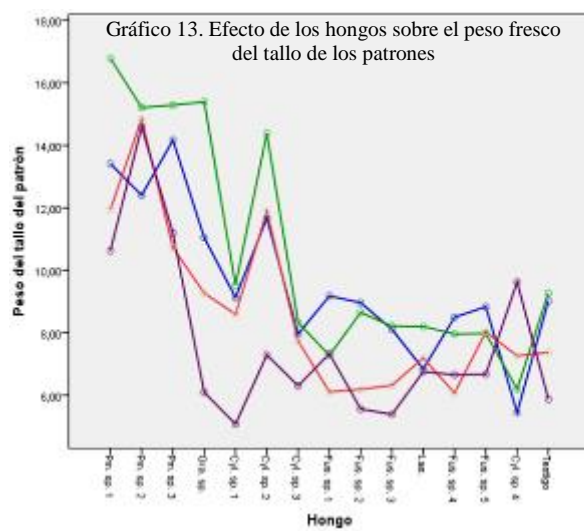
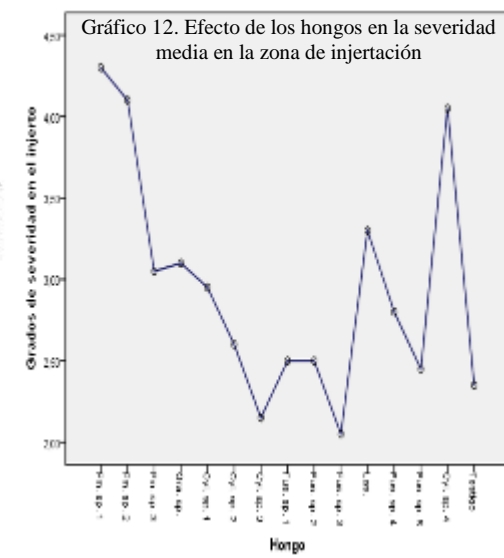
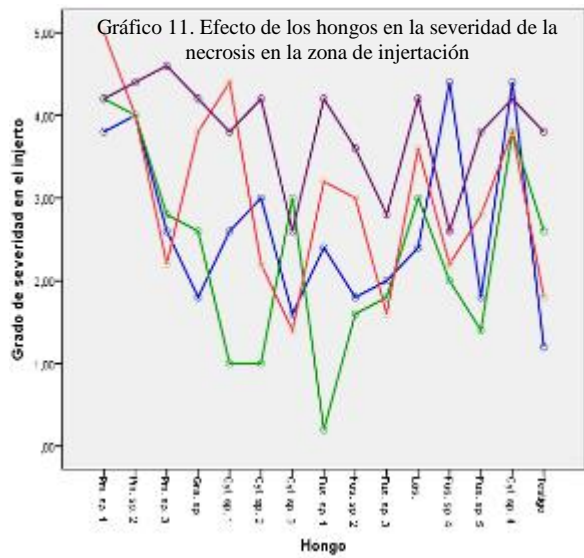
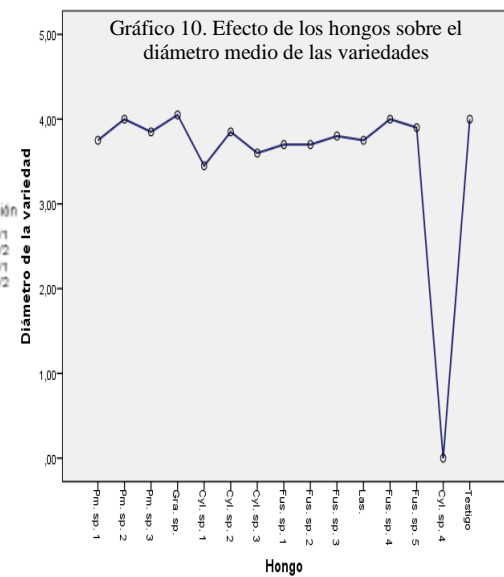
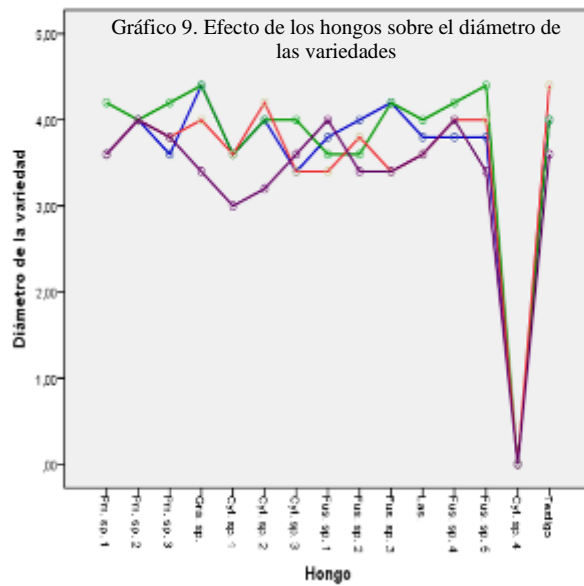
R cuadrado = ,258 R cuadrado corregida = ,178

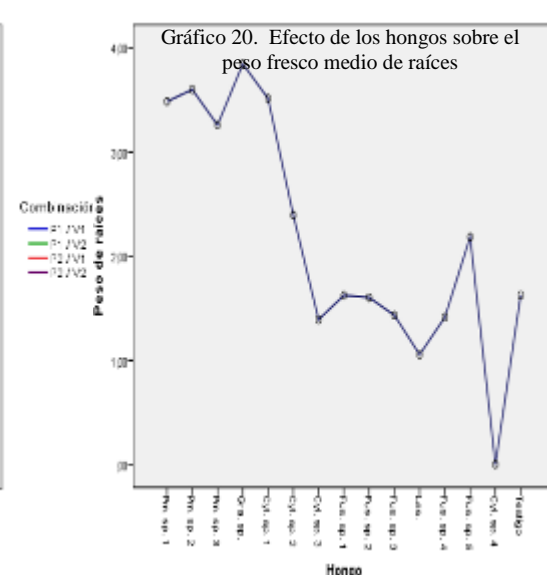
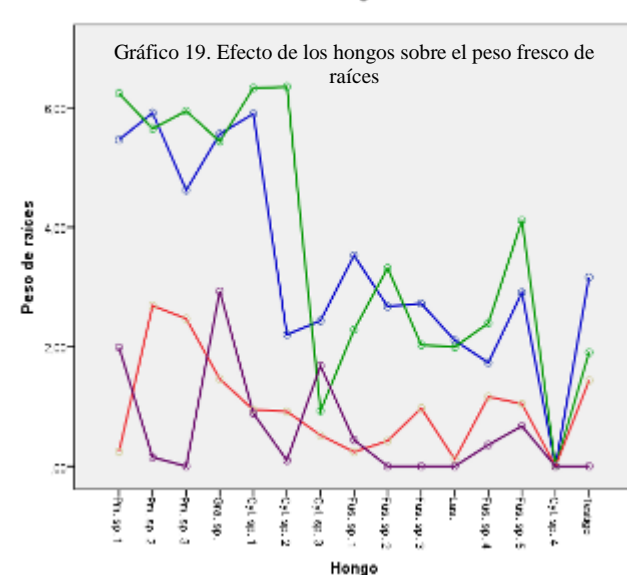
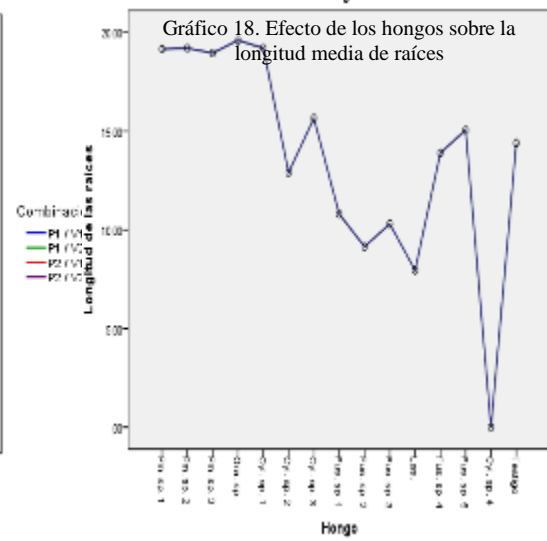
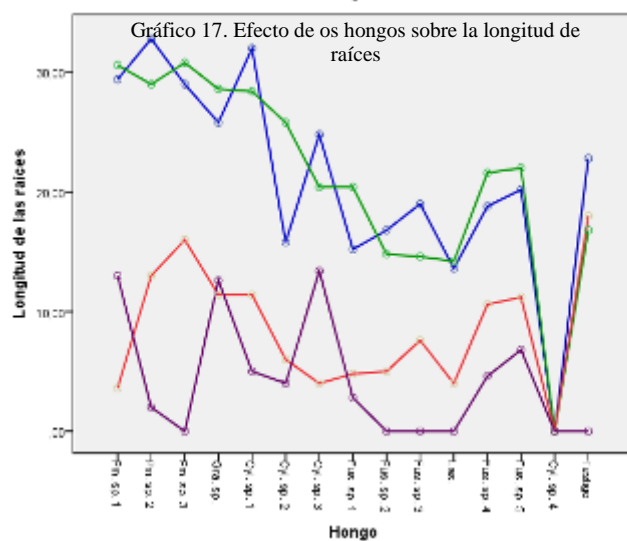
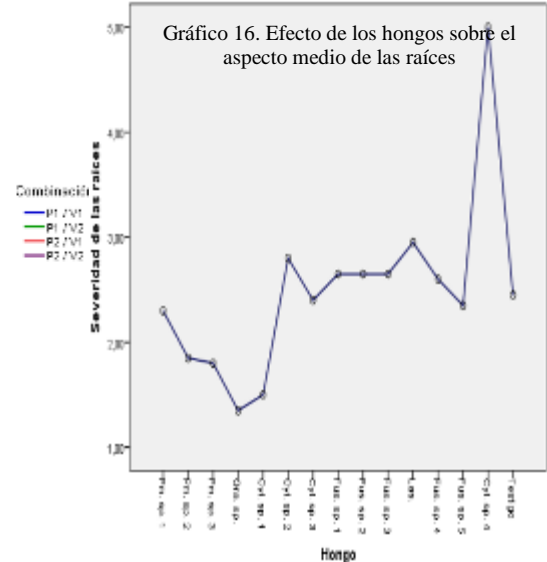
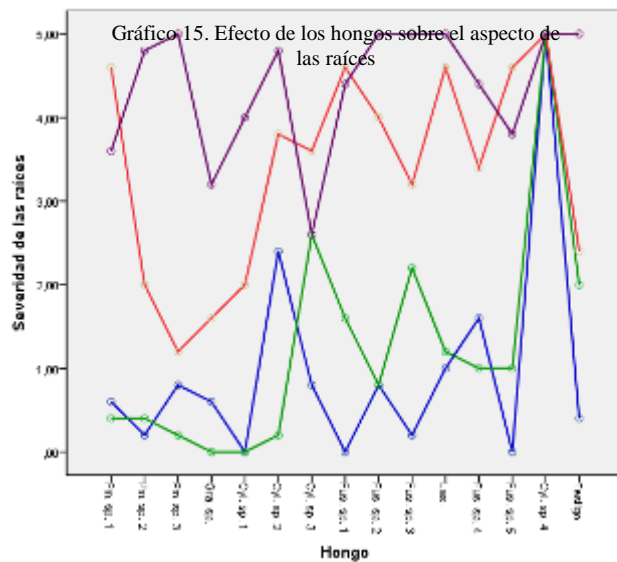
Tabla 27. ANVA efecto de tratamientos sobre el peso seco de raíces de los patrones Piura-Perú, 2018

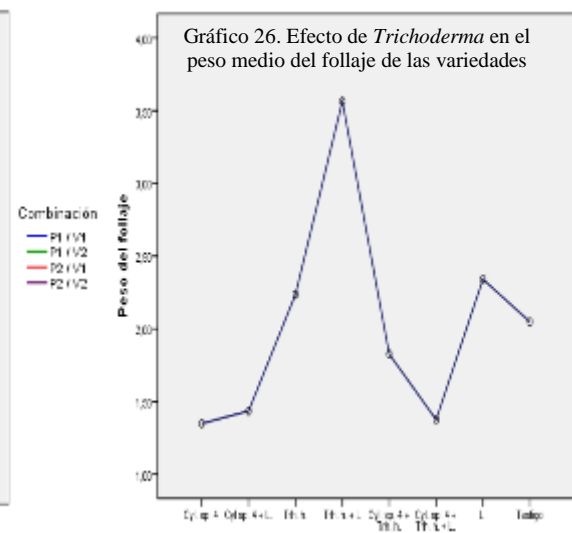
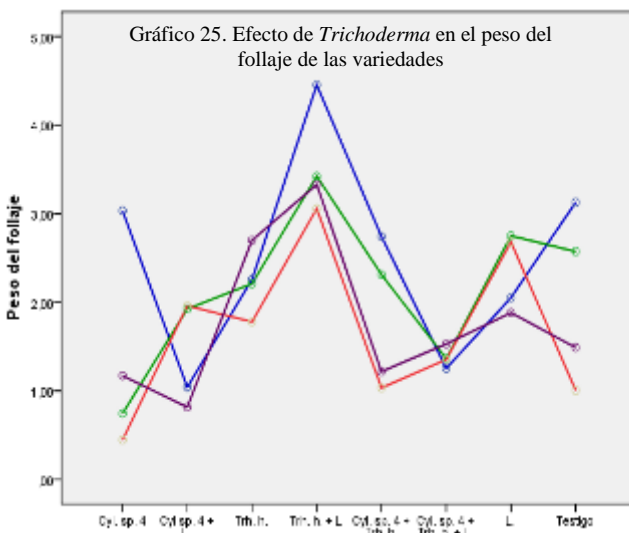
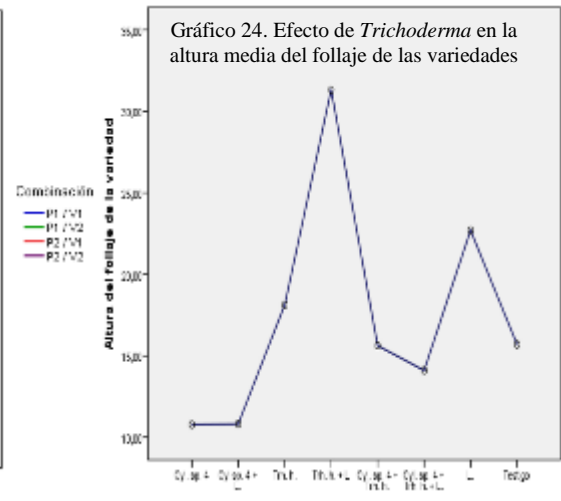
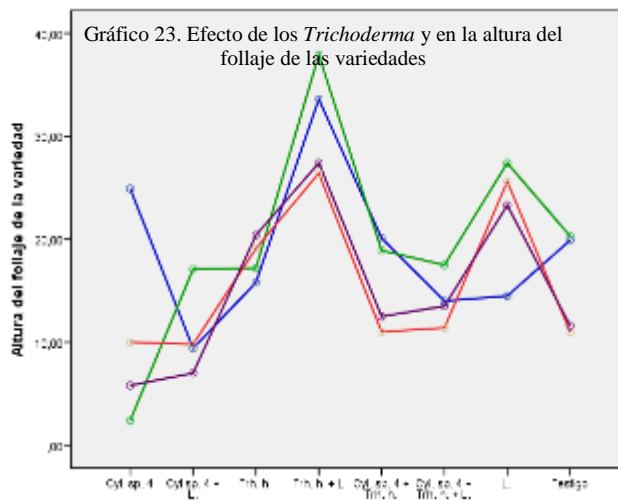
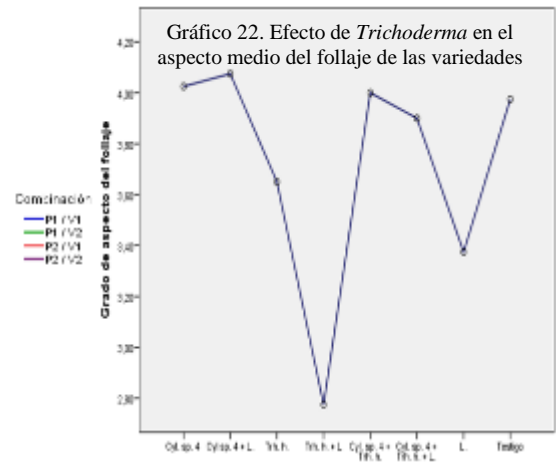
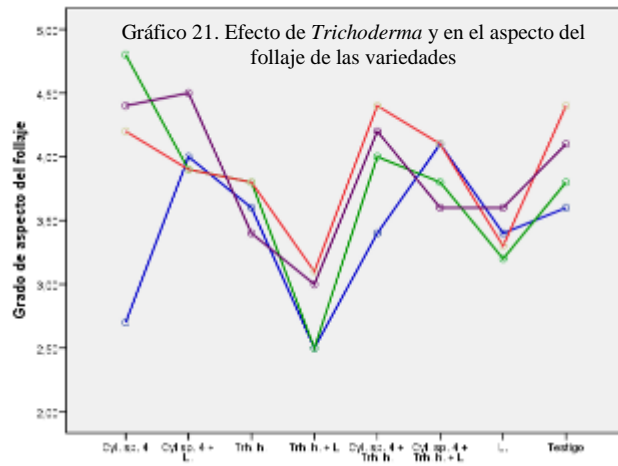
Origen	Suma de cuadrados tipo III	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Hongo	23,432	7	3,347	6,054	,000
Combinación	8,251	3	2,750	4,974	,002
Hongo * Combinación	14,190	21	,676	1,222	,231
Error	159,231	288	,553		
Total	343,335	320			
Total corregida	205,103	319			

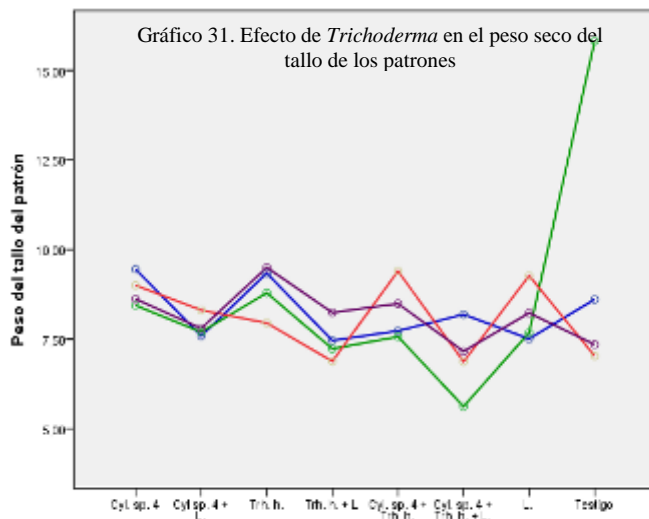
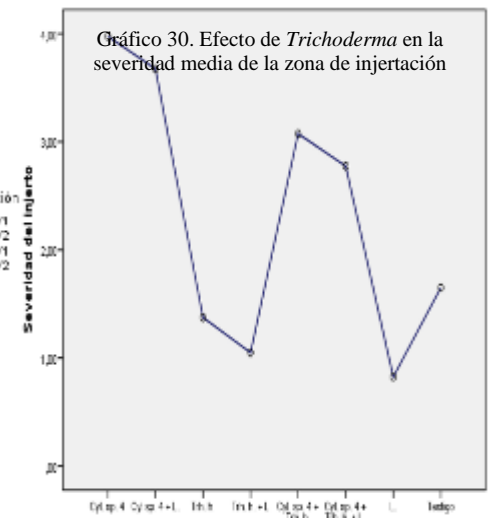
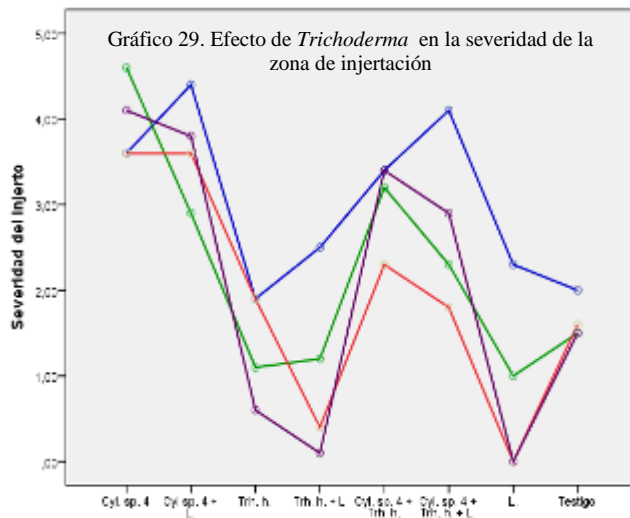
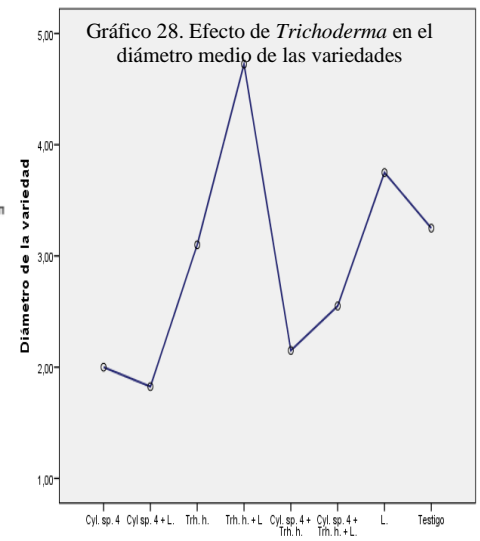
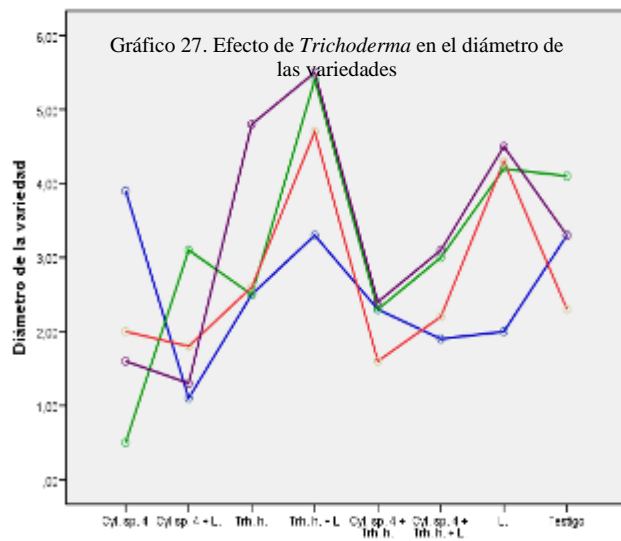
R cuadrado = ,224 R cuadrado corregida = ,140

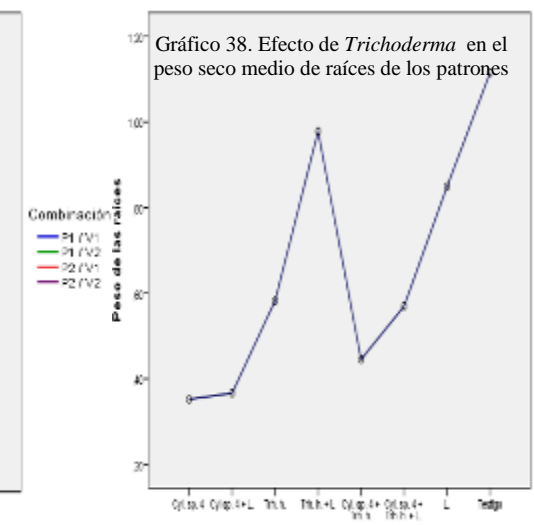
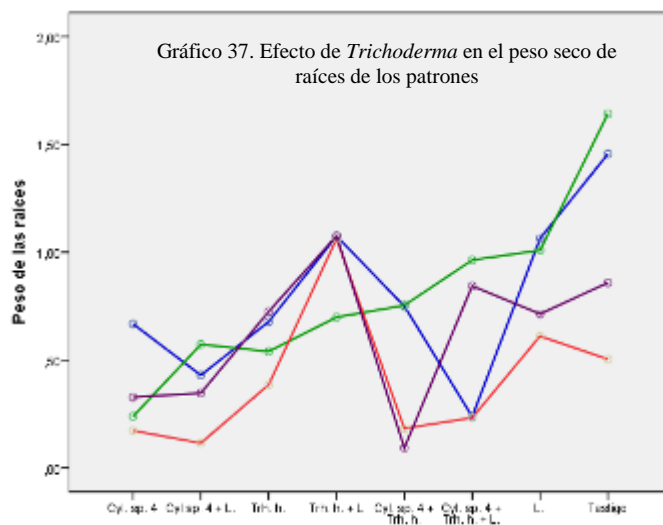
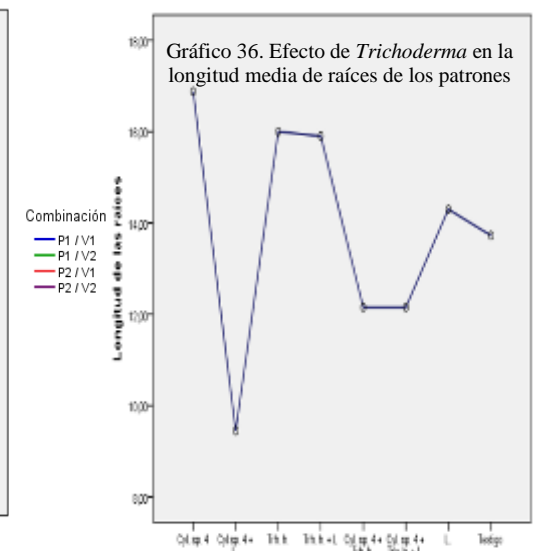
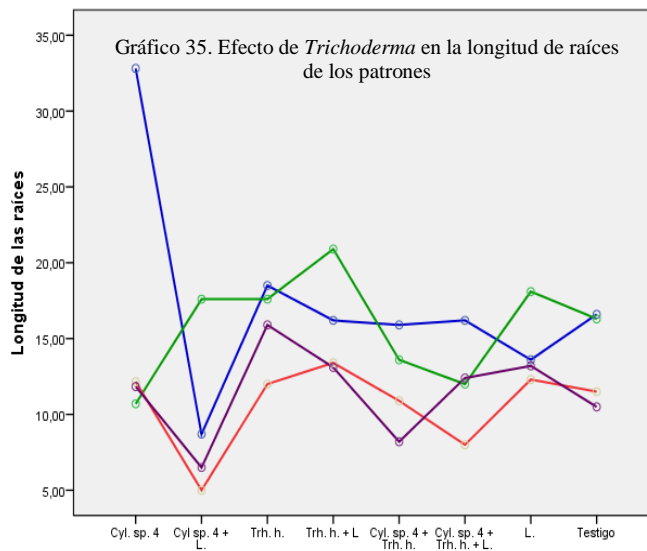
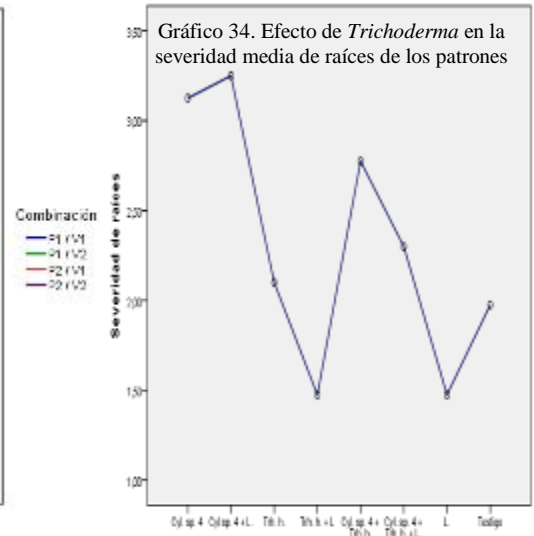
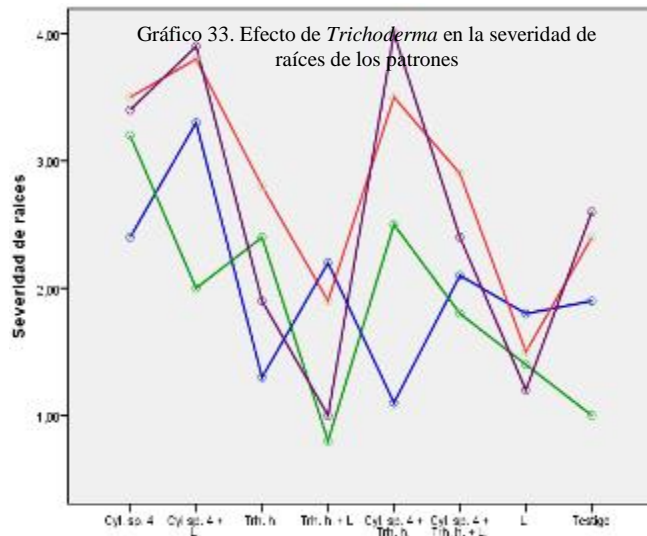












FICHA TECNICA DE LICHTOR®

1. GENERALIDADES

a) Nombre comercial	:	LICHTOR®	
b) Ingrediente activo	:	Sucratos y Aminoácidos activos	
c) Clase	:	Fungicida Biológico	
d) Grupo Químico	:	No Aplica	
e) Formulación	:	Concentrado Soluble	
f) Composición química	:	Carbohidratos Activos	7.90 %
		Ácidos Urónico	2.59 %
		Acido Succínico	0.80 %
		Magnesio (Mg)	0.33 %
		Materia Orgánica	11.80 %
		Aminoácidos activos	180 mg/L
		Aditivos naturales (c.s.p)	100 %

o

2. PROPIEDADES FISICO – QUIMICAS

a) Aspecto	:	Líquido marrón oscuro.
b) Olor	:	Característico
c) Estabilidad en almacén	:	En un área seca y en buenas condiciones de almacenamiento el producto se mantiene estable por un periodo de 3 años.
d) Corrosividad	:	No corrosivo
e) Explosividad	:	No explosivo
f) Inflamabilidad	:	No inflamable
g) Compatibilidad	:	Se puede usar en mezclas con la mayoría de insecticidas, fungicidas y foliares de uso agrícola.
h) pH	:	2.63
i) Densidad	:	1.32 g/ml

3. TOXICOLOGIA

a) DL ₅₀ oral aguda	:	> 2000
mg/kg DL ₅₀ dermal aguda	:	> 4000
mg/kg	:	
b) Categoría toxicológica	:	III – Ligeramente peligroso
c) Antídotos en caso de Intoxicaciones	:	No hay antídoto específico.
	El	tratamiento deberá ser sintomático.
d) Precauciones para su uso	:	Use máscara, guantes y ropa protectora durante su manipuleo. No coma, beba ni fume durante su preparación y aplicación. No almacene ni transporte junto a alimentos o forraje. Almacene en lugar fresco, seco y a la sombra.
		Manténgase bajo llave fuera del alcance de los niños y animales domésticos. Después de su aplicación báñese con

abundante agua y jabón. Cámbiese de ropa. Mantenerlo en su envase original.

4. MODO DE ACCION :
acción

Fungicida de contacto de

preventiva y curativa, por su efecto disruptor en los hongos fitopatógenos.

5. MECANISMO DE ACCION:

LICTHOR® es un extracto orgánico a base de elementos minerales y biomoléculas denominadas Sucratos y Aminoácidos Activos, cuya acción consiste en interrumpir el adecuado funcionamiento de la membrana celular del hongo fitopatógeno, ocasionado una fuerte descompensación debido a un diferencial electroquímico que provoca la pérdida de agua y paralización de los procesos metabólicos ligados a la membrana, hasta generar una total plasmólisis celular.

6. FITOTOXICIDAD : No es fitotóxico

7. MODO DE APLICACIÓN : En pulverización disuelto en suficiente cantidad de agua para lograr una adecuada distribución del preparado sobre el área de aplicación.

8. PERIODO DE CARENIA (P.C.) : No hay restricciones

9. LIMITE MAXIMO DE RESIDUOS (ppm) : No hay restricciones

10. USOS Y DOSIS

CULTIVO	ENFERMEDADES		Dosis (L/Ha)
	Nombre común	Nombre científico	
Vid	“Oidium”	<i>Erysiphe necator</i>	4
	“Mildiu”	<i>Plasmopara vitícola</i>	
Paprika	“Oidium”	<i>Leveillula taurica</i>	

- 11. MOMENTOS DE APLICACIÓN:** APLICACIONES PREVENTIVAS:
Iniciar las aplicaciones cuando aún no se observen los síntomas de la enfermedad y/o las condiciones sean favorables para el desarrollo del patógeno.
- APLICACIONES CURATIVAS:
Iniciar las aplicaciones tan pronto se observen los primeros síntomas de la enfermedad.
- 12. N° DE REGISTRO SENASA :** PBUA N° 271 – SENASA
- 13. FABRICANTE :** **Biogen Agro S.A.C.**
Jr. Helio 5658 Urb. Industrial
infantas- Los Olivos
Telef.528-6171 /5281500
Telefax: 528-1557 anexo:
219 Lima-Perú
- 14. DISTRIBUIDOR :** **Tecnología Química y Comercio S.A.**
Av. Separadora Industrial Mz. “E”
Lote 12. Urb. Santa Raquel 2° Etapa
Ate – Telf. 6126565. Fax 348-1020
Lima

ValeryPlus

Fungicida Biológico
para Uso Agrícola

I. COMPOSICION

Trichoderma harzianum.....2.3 x 10⁹ UFC/Gr
Trichoderma viride.....2.3 x 10⁹ UFC/Gr

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Es una formulación de esporas concentradas de *Trichodermas* en un sustrato especialmente acondicionado para la supervivencia del hongo en almacén y/o campo

II. MECANISMO DE ACCIÓN: ANTIBIOSIS, COMPETENCIA Y PARASITISMO.

El hongo *Trichoderma* al ser aplicado sobre la planta y/o el suelo, inicia el proceso de desarrollo de hifas que buscan al hongo patógeno para introducirse en él y luego parasitarlo (parasitismo). Asimismo compete por el espacio con el hongo patógeno (competencia) y segrega sustancias nocivas para el hongo patógeno (antibiosis) de modo tal que lo destruye por completo.

III. PERÍODO DE APLICACIÓN

Puede realizarse aplicaciones preventivas (inoculación) y de Control (Inundación).
Puede aplicar en cualquiera etapa fenológica del cultivo. No tiene residuos tóxicos.

IV. COMPATIBILIDAD

Es compatible con la mayoría de productos de origen natural, con sintéticos permitidos en agricultura orgánica. Compatible con los abonos foliares. Compatible con *Iprodione*, *Sulfato de Cobre*, *Fosfito potásico*, *Azufre* < 0.5 % y Aceites minerales < 1%.

Es compatible en programas de rotaciones en agricultura integrada con Metalaxil, Strobirulinas, Mancozeb y Piremetanil. Cualquier otra mezcla consulte con el especialista de campo. Se recomienda hacer siempre una pre-mezcla. Manejar PH 5.5 a 6.5, dureza del agua menor a 150 ppm

V. RECOMENDACIONES DE USO

CULTIVO	NOMBRE DE LA PLAGA		DOSIS CAMPAÑA	DOSIS. HA	L.M.R. (ppm)
	COMUN	TECNICO		APLICACION	
Paltos	Podredumbre gris	<i>Botrytis sp.</i>	250gr- 1Kg/Ha	250 gr	n.r.
Paltos	Cancro corteza	<i>Dothiorella sp.</i>	500gr-1Kg/Ha	250 gr	n.r.
Paltos	Brazo negro	<i>Lasiodiplodia sp.</i>	500gr-1Kg/Ha	250 gr	n.r.
Paltos	Muerte regresiva	<i>Phytophthora sp.</i>	1 - 2 Kg/Ha	500 gr	n.r.
Paltos	Muerte Ascendente	<i>Verticillium albo-atrum</i>	1 - 2 Kg/Ha	500 gr	n.r.
Vid	Oidium	<i>Uncinula necator</i>	1 - 2 Kg/Ha	250 gr	n.r.
Vid	Botrytis	<i>Botrytis sp.</i>	1 - 2 Kg/Ha	250 gr	n.r.
Vid	<i>Cylindrocarpon</i>	<i>Cylindrocarpon sp.</i>	1 - 2 Kg/Ha	500 gr	n.r.
Cítricos	Mancha parda	<i>Alternaria spp</i>	500gr-1Kg/Ha	250 gr	n.r.
Cítricos	Podredumbre gris	<i>Botrytis sp.</i>	500gr-1Kg/Ha	250 gr	n.r.
Espárrago	Mancha púrpura	<i>Stemphylium vesicarium</i>	500gr-1Kg/Ha	250gr	n.r.
Café	Roya del café	<i>Hemileia vastatrix</i>	500gr-1Kg/Ha	250 gr	n.r.
Café	<i>Cercospora</i>	<i>Cercospora coffeicola</i>	500gr-1Kg/Ha	250 gr	n.r.
Fresa	Podredumbre gris	<i>Botrytis sp.</i>	500gr-1Kg/Ha	130 gr	n.r.
Ajíes, Tomate	Podredumbre gris	<i>Botrytis sp..</i>	500gr-1Kg/Ha	130 gr	n.r.
Flores	Podredumbre gris	<i>Botrytis sp.</i>	500gr-1Kg/Ha	130 gr	n.r.
Frutales, hortalizas	Marchitez	<i>Fusarium sp.</i>	1 - 2 Kg/Ha	250 gr	n.r.
Hortalizas	chupadera	<i>Rhizoctonia solani</i>	1 - 2 Kg/Ha	250 gr	n.r.
Leguminosas	Podredumbre gris	<i>Botrytis sp.</i>	500gr-1Kg/Ha	250 gr	n.r.

ADVERTENCIA

Al pertenecer al grupo de microorganismos GRAS no dañinos para el hombre, sin embargo protegerse, realizando las buenas prácticas agrícolas.